

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1954

N°
537

THÈSE
pour le doctorat en Médecine
(Diplôme d'État)

par

CASASSUS Pierre

Interne des Hôpitaux de Paris

né le 16 Mars 1922, à Bordeaux (Gironde)

Présentée et soutenue publiquement le 24 Juin 1954

TITRE

**" LE SÉROGRAMME ÉLECTROPHORÉTIQUE
SON INTÉRÊT DANS LES MALADIES
DE L'APPAREIL DIGESTIF "**

Président :

M. le Professeur A. LEMAIRE

Année 1954

N°

THÈSE
pour le doctorat en Médecine
(Diplôme d'État)

par
CASASSUS Pierre
Interne des Hôpitaux de Paris
né le 16 Mars 1922, à Bordeaux (Gironde)

Présentée et soutenue publiquement le 24 Juin 1954

TITRE

**" LE SÉROGRAMME ÉLECTROPHORÉTIQUE
SON INTÉRÊT DANS LES MALADIES
DE L'APPAREIL DIGESTIF "**

Président :
M. le Professeur A. LEMAIRE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153503_0040

TRAVAIL DE LA CLINIQUE THERAPEUTIQUE MEDICALE

(Professeur A. LEMAIRE)

DOYEN HONORAIRE :

M. Baudoin

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Baudoin, Brindeau, Carnot, Chevassu, Chiray, Clerc, Delbat, Gougerot (H), Guillaïn, Harvier, Laubry, Lemaitre, Lemierre, Lhermitte, Lian, Loeper, Marion, Mathieu, Mocquot, Mulon, Olivier, Ombredanne, Sannié, Sézary, Tanon.

DOYEN Léon BINET, Membre de l'Institut

ASSEESSEUR Jean VERNE

I.- PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	CORDIER (G.)
Anatomie pathologique	DELARUE (A.)
Bactériologie	GASTINEL (P.)
Biologie appliquée à l'éducation physique et aux sports	CHAILLEY-BERT (P.)
Biologie médicale	VERNE (J.)
Cancérologie médicale et sociale	HUGUENIN (R.)
Carcinologie	OBERLING (C.)
Chimie médicale	POLONOVSKI (M.)
(Hôtel-Dieu	BROCQ (P.)
Cliniques chirurgicales { Broussais ...	D'ALLAINES
(Salpêtrière ..	MONDOR (H.)
(Cochin	QUENU (J.)
Clinique chirurgicale réparatrice et orthopédique	MERLE D'AUBIGNE (R.)
Clinique de cardiologie	DONZELOT (E.)
Clinique de chirurgie infantile et d'orthopédie	FEVRE (M.)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire	MONOD (R.)
Clinique de la tuberculose	BERNARD (E.)
Clinique de neuro-chirurgie	PETIT-DUTAILLIS (D.)
Clinique de puériculture	LELONG (M.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	DEGGS (R.)
Clinique des maladies du sang	CHEVALLIER (P.)
Clinique des maladies du système nerveux ...	ALAJOUANINE (T.)
Clinique des maladies des enfants	DEBRE (R.)
Clinique des maladies infectieuses	MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale	DELAY (J.)
Clinique gynécologique	FUNCK-BRENTANO (P.)
(Hôtel-Dieu ..	BENARI (H.)
(Bichat	LAROCHE (G.)
Cliniques médicales { Cochin	MOREAU (R.)
(Broussais ...	DE GENES

Clinique médicale d'hydro-climatologie	
thérapeutique	JUSTIN-BESANCON (L.)
Clinique médicale propédeutique	PASTEUR-VALLERY-RADOT (L.)
(Tarnier	LANTUEJOUL (P.)
Cliniques obstétricales (Baudelocque	LEVY-SOLAL (E.)
(Port-Royal	LACOMME (M.)
Clinique ophtalmologique	ELTER (E.)
Clinique oto-rhino-laryngologique	AUBIN (A.)
Clinique physio-pathologique des problèmes	
alimentaires (chaire à titre personnel)	RICHET (C.)
Clinique psychiatrique infantile	HEUYER (C.)
Clinique rhumatologique	COSTE (F.)
Clinique stomatologique	DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale	SENEQUE (J.)
Clinique thérapeutique médicale	LEMAIRE
Clinique urologique	FEY (B.)
Embryologie	GIROUD (A.)
Génétique	LAMY (M.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie ..	MOUQUIN (M.)
Histologie	CHAMPY (C.)
Hygiène et clinique de la première enfance ..	CATHALA (J.)
Hygiène et médecine préventive	JOANNON (C.)
Médecine du travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	PIEDELIEVRE (R.)
Parasitologie et histoire naturelle	
médicale	GAILLIARD (H.)
Pathologie chirurgicale	N
Pathologie exotique	LAVIER (G.)
Pathologie expérimentale et comparée	LENEGRE (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	N
Pharmacologie et matière médicale	HAZARD (R.)
Physico-chimie médicale (chaire à titre	
personnel)	DOGNON (A.)
Physiologie	BINET (L.)
Physique médicale	STROHL (A.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)
Technique chirurgicale	MOULONGUET (P.)
Thérapeutique	TURPIN (R.)
Chaire de clinique médico-sociale du diabète	
sucré et des maladies de la nutrition	BOULIN

II.- PROFESSEURS SANS CHAIRE

MAITRE DE CONFERENCES-AGREGES ET AGREGES

Anatomie	(DEBEYRE (J.)
	(DELMAS (A.)
Anatomie pathologique	(GAUTHIER-VILLARS
	((Melle P.)Pr.s.ch.
	(BUSSER (F.)
	(GOUYGOU

Bactériologie	(FASQUELLE (R.) (NEVOT (A.)
Biologie médicale	BOURLIERE (F.)
Chimie médicale	(ETTORI (J.) Pr.s.ch. (JAYLE (M.F) Pr.s.ch. (SCHAPIRA (G.)
Dermato-syphiligraphie	DUPERRAT
Histologie	(BULLIARD (E.) Pr.s.ch. (COUJARD (R.)
Hydrologie	DEBRAY (C.)
Hygiène	(BOYER (DEPARIS (M.)
Médecine légale	(DEROBERT (L.) (HADENGUE (GAULTIER (M.)
Neuro-chirurgie	DAVID
Neurologie	SEZE (S.de)
	(GRASSET (J.) (LEPAGE (F.) (MAYER (M.)
Obstétrique	(MERGER (R.) (RAVINA (J.) (VARANGOT (J.) (MORIN
Ophthalmologie	(OFFRET (G.) (DESVIGNES (P.)
Orthopédie	JUDET
Oto-rhino-laryngologie	(HALPHEN (E.) Pr.s.ch. (AUBRY (MADURO (R.)
Parasitologie	BRUMPT (L.)
Parasitologie coloniale	CHABAUD
	(ABOULKER (P.) (BAUMANN (J.) (GOSSET (J.) (HUGUIER (J.)
Pathologie chirurgicale	(LAURENCE (G.) (LEGER (L.) (OLIVIER (Cl.) (PADOVANI (P.) (LORTAT-JACOB
	(POILLEUX (M.) (ROUX (RUDIER (J.C.) (VERNE (J.M.)
Pathologie chirurgicale	
Pathologie expérimentale	MERKLEN (P.)

MM.

	(BERNARD (J.)
	(BOUDIN (G.)
	(CASTAIGNE (P.)
	(CONTE (M.)
	(DECOURT (J.)
	(DOMART (A.)
	(DREYFUS (Gilbert)
	(FAUVERT (R.)
Pathologie médicale	(HAMBURGER (J.)
	(KOURILSKY (R.)
	(MILLIEZ (P.)
	(PERRAULT (M.)
	(RAMBERT (P.)
	(THIEFFRY (St.)
	(TRIAF (J.)
	(LAROCHE
	(PEQUIGNOT
	(LAMOTTE
Pédiatrie	(LAPLANE (R.)
	(MARIE (J.)
Pharmacologie	(LEVY (Mlle J.) Pr.s.ch.
	(CHEYMOL (J.H.) Pr.s.ch.
Physiologie	(BARGETON (D.) Pr.s.ch.
	(PARROT (J.L.)
Physique médicale	(DJOURNO (A.)
	(GOUGEROT (L.)
Phtisiologie	KREIS
Psychiatrie	BARUK (H.)
Psychiatrie infantile	MICHAUX (L.)
Stomatologie	(CHAPUT (Mme A.)
	(CERNEA
Puériculture	JOSEPH
Thérapeutique	PERRAULT
	chargé de l'ensei -
	gnement
Urologie	KUSS (R.)

III.- PROFESSEURS HONORAIRES ET AGREGES
RAPPELES A L'EXERCICE
pour le service des examens

MM. BRINDEAU (A.) (Obstétrique), GATELLIER (J.) (Clinique chirurgicale), LE LORRIER (V.) (Obstétrique), VAUDESCAL (R.) (Obstétrique).

IV.- PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGREGES
CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE
à titre permanent

	MM.
Clinique chirurgicale	(AMELINE (A.) MENEGAUX (G.) PATEL (J.) SICARD (A.) BROUET (G.) CACHERA (R.) GARCIN (J.) HAGUENAU (M.) MARCHAL (G.) SOULIE (E.)
Clinique médicale	
Clinique obstétricale	(DIGONNET (L.) EGALLE (G.)
Clinique ophtalmologique	RENART (G.)
Clinique urologique	COUVELAIRE (R.)

	MM.
Secrétaire de la Faculté	MOREL (J.)
Secrétaire Adjoint	Melle CHANTREUIL (G.)

Conservateur Docteur HAHN (A.)
Bibliothécaires M. DOUAN (G), Melles DUMAITRE (P),
GOICHON (A.M), LE NOIR (G.),
METIN (F.)

Par délibération en date du 9 Déc. 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A mon Père,
le Docteur Jean CASASSUS.

A ma Mère.

A ma Femme.

A nos Enfants,
Hélène, Françoise et Jean.

A ma Grand'Mère.

A mes Beaux-Parents.

A mes Oncles et Tantes.

A mon Parrain.

A mes Amis.

A mon Maître et Président de Thèse,

Monsieur le Professeur A. LEMAIRE

Professeur de Clinique Médicale,

Médecin des Hôpitaux,

Que je tiens à remercier
particulièrement pour l'affectueuse
bienveillance qu'il m'a témoignée
au cours de mon internat, pour les
conseils qu'il m'a prodigués dans
l'élaboration de ce travail, et
pour l'honneur qu'il me fait en
acceptant la présidence de cette
thèse.

A mon Maître,
Monsieur le Professeur F.P. MERKLEN

Il a toujours marqué pour les
niens comme pour moi-même l'intérêt
le plus affectueux.

Je veux lui redire ici ma
profonde gratitude et la fidélité
de mon sincère attachement.

A mon Maître,
Monsieur le Professeur Agrégé Ch. DEBRAY

Dont l'amitié souriante m'a
toujours été du plus grand ré-
confort.

A MES MAITRES DE LA FACULTE.

A MES MAITRES DES HOPITAUX :

Externat -

Bordeaux 1942 - Monsieur le Professeur DAMADE (in memoriam)

Monsieur le Professeur DUFOUR.

1943 - Monsieur le Professeur DAMADE (in memoriam)

Paris 1946 - Monsieur le Docteur Pierre BOURGEOIS

Monsieur le Professeur TURPIN

1947 - Monsieur le Professeur PASTEUR VALLERY-RADOT

Monsieur le Professeur LIAN

1948 - Monsieur le Professeur ALAJOUANINE

Monsieur le Professeur MOLIARET.

Internat Provisoire -

1949 - Monsieur le Docteur UHRY

Internat - 1950 - Monsieur le Professeur MERKLEN

Monsieur le Docteur MORIN

1951 - Monsieur le Professeur PASTEUR VALLERY-RADOT

Monsieur le Docteur HILLEMAND

1952 - Monsieur le Docteur Ch. DEBRAY

Monsieur le Professeur A. LEMAIRE

1953 - Monsieur le Professeur ALAJOUANINE

Monsieur le Professeur A. LEMAIRE.

A Messieurs les Professeurs Agrégés :

BOUDIN, CASTAIGNE, DOMART, Cl. LAROCHE, MILLIEZ.

A Monsieur le Docteur Jacques LOEPER

Médecin des Hôpitaux.

A nos Conférenciers :

Messieurs les Docteurs ALISON, COMBET, DARNIS, HOUDART.

Monsieur le Docteur BURGOT.

TABLE DES MATIERES

=====

INTRODUCTION.	1
<u>PREMIERE PARTIE -</u>	3
I- HISTORIQUE.	4
1)- Les méthodes de relargage.	4
2)- L'ultracentrifugation.	5
3)- L'électrophorèse classique.	5
II- LES FRACTIONS ELECTROPHORETIQUES DE TISELIUS.	11
a)- pH isoélectrique.	11
b)- Leur étude par ulcentracentrifugation.	12
c)- Leur étude par relargage.	13
d)- Leur composition.	15
- Les lipoprotéines du sérum.	15
- Les glucoprotéines du sérum.	19
III--TESTS D'ANOMALIE SERIQUE DANS LA PRATIQUE COURANTE.	23
IV- L'ELECTROPHORESE SUR PAPIER.	25
Principe.	25
Historique.	26
Les appareils :	27
Electrophorèse à plat	28
Electrophorèse de DURRUM.	31

La révélation des fractions sériques.	37
1- La bande protidique.	37
Méthodes de coloration.	38
Méthode d'évaluation quantitative.	40
2- La bande lipidique.	51
Méthodes de coloration.	51
Méthodes d'évaluation quantitative.	53
3- La bande glucidique.	54
Méthodes de coloration.	55
Méthodes d'évaluation quantitative.	57
4- L'extraction du cholestérol dans les fractions sériques.	58
Technique.	60
1- La conduite de l'électrophorèse.	60
2- La révélation du sérogramme.	65
A- Les protides.	66
B- Les lipoprotéines.	67
C- Les glucoprotéines.	69
3- L'électrophorèse et le dosage du cholestérol dans les fractions sériques.	72
<u>DEUXIEME PARTIE - LE SEROGRAMME NORMAL.</u>	74
I- ASPECT D'ENSEMBLE.	75
II- LE PROTIDOGRAMME.	78
Aspect.	78
Courbe.	79
Etude quantitative.	80
Reproductibilité.	83
Effet du vieillissement et du chauffage.	84

III- LE LIPIDOGRAMME.	86
Aspect.	86
Courbe.	86
Etude quantitative.	91
Reproductibilité.	93
Variations du lipidogramme.	94
IV- LE CHOLESTEROL.	100
V- LE GLUCIDOGRAMME.	104
Aspect.	104
Courbe.	105
Etude quantitative.	106
Reproductibilité.	108
Effet du vieillissement.	109
<u>TROISIEME PARTIE - LE SEROGRAMME PATHOLOGIQUE.</u>	110
I- RAPPEL DES ANOMALIES PRINCIPALES DU SEROGRAMME DANS LA PATHOLOGIE EN GENERAL.	111
Maladies infectieuses.	111
Maladies du rein.	114
Maladies du coeur.	115
Maladies du sang et des glandes endocrines.	116
II- LE SEROGRAMME DANS LES MALADIES DU FOIE.	118
Généralités.	
1- La cirrhose.	121
Fractions protidiques.	122
Fractions lipidiques.	128
Cholestérol.	131

Fractions glucidiques.	132
Commentaires.	135
L'ascite dans la cirrhose.	136
Rapport avec les tests de la fonction hépatique.	138
Conclusion.	140
2- Les ictères.	141
Fractions protéidiques.	142
Fractions lipidiques.	147
Cholestérol.	152
Fractions glucidiques.	152
Evolution des ictères.	155
3- Cholécystite lithiasique.	161
4- Cancer du foie.	164
III- LE SEROGRAMME DANS L'ULCUS GASTRIQUE.	166
IV- LE SEROGRAMME CHEZ LES GASTRECTOMISES.	167
<u>CONCLUSIONS</u> -	169
<u>BIBLIOGRAPHIE</u> -	174

I N T R O D U C T I O N

Après les premiers essais de fractionnement du sérum qui remontent déjà à près d'un siècle par les premières méthodes de relargage, après l'électrophorèse de Tiselius en 1937, c'est en 1948 qu'a pris naissance la dernière méthode en date : l'électrophorèse sur papier filtre de Wieland.

Il n'est pas exagéré de dire que celle-ci devait transformer rapidement le problème du fractionnement sérique. Elle a fait passer l'électrophorèse du domaine du laboratoire hautement scientifique à celui de la pratique médicale courante. Bien plus, ses développements récents ont augmenté encore l'intérêt du fractionnement en permettant, grâce à des colorations appropriées, de révéler les fractions lipido-protidiques et glucido-protidiques du sérum, bref pour la première fois d'obtenir un sérogramme électrophorétique dont la réalisation est relativement facile et l'application clinique quotidienne.

Nous nous proposons :

- Dans une première partie, après un bref historique du fractionnement sérique, d'étudier l'électrophorèse sur papier, d'envisager à la lueur des travaux qui nous précèdent

et de notre expérience personnelle ses avantages et ses inconvénients, d'apprécier les diverses méthodes qui ont été proposées, d'apporter quelques notes de technique personnelle, notamment dans le domaine de la coloration des lipides et des glucides, ainsi que le dosage du cholestérol dans les fractions lipido-proteïdiques.

- Dans une deuxième partie, nous étudierons le sérogramme normal.

- Dans une troisième partie, après un bref rappel des principales anomalies du sérogramme dans la pathologie en général, nous étudierons spécialement le sérogramme dans les maladies de l'appareil digestif : maladies du foie et des voies biliaires, ulcère gastro-duodéal, gastrectomisés.

Nous tenons à renouveler ici l'expression de notre gratitude à Monsieur le Professeur LEMAIRE qui nous inspira le sujet de cette thèse et soutint nos efforts de sa constante bienveillance, et à remercier le Docteur LAVERGNE, Chef de Laboratoire, qui nous a fait bénéficier de son expérience et de ses conseils, et Madame BERNARD pour son aide technique précieuse.

PREMIERE PARTIE



I/- HISTORIQUE -

I/- Les méthodes de relargage -

Il y a maintenant un siècle (DENIS, 1858) (20) que la première étape du fractionnement des protéines a débuté avec les méthodes de relargage, précipitation des protéines par la dilution du sérum suivie d'une légère acidification qui a permis de définir dès cette période la globuline constituée par le précipité qui se formait dans ces conditions et l'albumine qui restait en solution.

Dans une deuxième étape, on devait, par des procédés analogues, diviser les globulines en "euglobulines", ou globulines vraies insolubles dans l'eau distillée, et "pseudo-globulines" solubles en l'absence d'électrolytes.

Dans la suite, de nombreux auteurs se sont efforcés de diviser les globulines par des méthodes de précipitation diverses, les uns par précipitation fractionnée en présence de sels de métaux légers, en solution concentrée (sulfate NH_4 , Sodium, Zinc notamment) ; quelques-uns en présence de sels de métaux lourds ; enfin, plus récemment, par des solvants organiques, l'alcool éthylique au premier chef. Ainsi furent décrites de nombreuses fractions globuliniques, toutes plus

ou moins différentes selon les auteurs et sans qu'un langage commun, des propriétés communes puissent parvenir à leur donner une certaine similitude, sans qu'un système cohérent puisse être décrit, et ce n'est en fait qu'après 1937, à la lueur des fractionnements électrophorétiques de TISELIUS qu'on a pu enfin établir leurs relations.

2/- L'ultracentrifugation -

En 1926, SVEDBERG (117), à Upsala, mettait au point un nouveau système de fractionnement du sérum basé sur la vitesse de sédimentation des diverses fractions protidiques sous l'influence de la centrifugation prolongée à haute vitesse (36 heures à 12.000 tours-minute dans l'appareil original de SVEDBERG). Il obtenait ainsi trois fractions principales, l'une d'albumine de vitesse de sédimentation faible, une autre de globuline à vitesse de sédimentation nettement supérieure, une troisième, intermédiaire, dénommée "composé X" que l'avenir montra être un mélange d'albumine et de globulines.

3/- L'électrophorèse classique -

En fait, c'est avec l'avènement de l'électrophorèse que le fractionnement sérique allait acquérir une certaine homogénéité et c'est par l'électrophorèse que les diverses méthodes employées jusqu'alors allaient prendre tout leur intérêt.

LINDER et PINCTON, en 1892, firent la première électrophorèse, observant la migration de l'hémoglobine dans un champ électrique.

Sir William HARDY (42), en 1905, fut le premier à observer les effets du passage d'un courant électrique dans une solution de sérum à l'intérieur d'un tube en U, et dès cette période il entrevit l'importance de cette méthode pour obtenir des fractions relativement homogènes.

En 1927, REINER (97) employait un tube en U avec un robinet à la base de chaque branche par lequel on pouvait retirer des échantillons pour essayer de déterminer la migration.

THEORELL (123), en 1930, analysant par des méthodes de précipitation les échantillons retirés du tube, nota qu'albumine et globuline migraient de façon différente sous l'influence du courant électrique. BENNHOLD (7), en 1932, usant d'une méthode similaire, arrivait aux mêmes conclusions. MAC FARLANE (67), en 1935, isolait suffisamment d'albumine et de globuline du tube en U pour des déterminations à l'ultra-centrifugation : il concluait, un peu présomptueusement sans doute, que l'électrophorèse donnait des fractions vraiment homogènes.

Mais, c'est en 1937 que TISELIUS (124-127), dans cette même Université d'Upsala qui, onze ans plus tôt, avait vu naître l'ultracentrifugation, allait mettre au point

l'électrophorèse, déceler l'existence de trois fractions globuliniques distinctes et leur donner les noms de alpha, beta et gamma globulines qu'elles ont conservé depuis lors. C'est le grand mérite de TISELIUS et de ses collaborateurs d'avoir étudié de façon extrêmement soignée les problèmes que posait la migration des protides dans un champ électrique et d'avoir ainsi précisé les principes d'une expérimentation exacte.

Il a d'une part attiré l'attention sur les courants de convection (par effet Joule) qui constituent la plus sérieuse source d'erreur dans des systèmes de haute conductivité, tels que sérum ou protides sériques, et les a éliminés pratiquement par le maintien d'une température égale ou inférieure à 4° et stable durant toute l'expérience et ainsi un voltage 7 à 10 fois supérieur pouvait être utilisé, concourant à une bien meilleure séparation des éléments.

Il a d'autre part remplacé la méthode de photographie en lumière ultra-violette utilisée jusqu'alors, très grossière et qui ne permettait pas de distinguer des fractions fines, par une méthode dépendant de l'indice de réfraction : la Schlieren-method de TOEPLER. Un faisceau de rayons lumineux parallèles venant frapper la surface de séparation de deux milieux de concentration différente, tels que tampon pur et tampon contenant en solution une fraction protidique, est dévié, alors que les rayons sus- et sous-jacents qui ne

traversent que le tampon gardent leur direction originale. Cette déviation s'accroît au fur et à mesure que la concentration de la fraction protéidique augmente, réalisant ainsi des "gradients de concentration". Si l'on supprime par un diaphragme les rayons déviés, la photographie du tube en U laisse apparaître des bandes noires sur le fond clair du tube. Ainsi pouvaient être décollées des fractions très petites.

Il utilisait enfin un tube fait de 3 sections superposées et séparables, permettant dans une certaine mesure le prélèvement des fractions obtenues.



En 1939, à peu près simultanément, LONGSWORTH (65), PHILPOT (89) et SVENSSON (118) établirent des systèmes permettant d'enregistrer non plus les bandes de disparition des rayons parallèles mais les rayons déviés eux-mêmes sous forme de courbes correspondant aux gradients de

concentration.

Ces courbes constituent, avec la ligne de base, des surfaces fermées dont on peut admettre qu'elles sont proportionnelles à la quantité des différentes fractions protidiques (si du moins l'on admet que leur indice de réfraction est le même). On peut ainsi, par planimétrie après intégration des surfaces, faire une évaluation du pourcentage des fractions (I).

Les perfectionnements successifs du système optique ont permis de constater que ces fractions principales peuvent se séparer en sous-fractions. Ainsi, SVENSSON distingue deux alpha et deux beta globulines dans le sérum de cheval ; WIEDEMANN (132) trouve, en 1946, dans des sérums humains deux alpha globulines et trois beta globulines ainsi que deux gamma globulines. Il y a même, pour des Ph plus acides (Ph 4), deux albumines. Ces sous-fractions ont été surtout trouvées dans des cas pathologiques, mais elles ont pu être décelées aussi dans le sérum des sujets normaux. Les plus constantes que l'on retrouve pratiquement dans toutes les courbes électrophorétiques des sujets normaux sont les sous-fractions de alpha, alpha I et alpha 2 que l'électrophorèse sur papier, nous le verrons, objective encore plus nettement et de façon régulière.

(I)- La ligne de base est donnée par "la ligne joignant les valeurs moyennes de la terminaison des albumines et globulines". (WIEDEMANN).

A côté de cette représentation graphique des fractions protidiques, on a cherché, dès le début, à obtenir des fractions protidiques aussi pures que possible pour procéder soit à l'étude de leur homogénéité par les procédés de relargage ou d'ultracentrifugation, soit à des études chimiques pour préciser leur composition, notamment leur teneur en lipides, cholestérol, glucides.

TISELIUS avait inventé un système de pompe qui permettait de séparer les diverses sections du tube en U avec le minimum d'ébranlement. En fait, malgré cela, les perturbations hydrostatiques ainsi créées étaient trop fortes encore pour pouvoir effectuer plus d'une séparation à la fin de l'électrolyse. On pouvait ainsi séparer albumine et alpha-globuline d'une part et beta et gamma d'autre part, puis refaire l'électrophorèse de ces deux portions pour avoir des fractions isolées.

MACHEBOEUF (68) a imaginé, en 1941, un instrument bien plus simple avec un tube en U dont la branche, du côté de l'anode, était perforée de cinq trous équidistants, bouchés par du collodion pendant l'opération. A la fin de l'électrophorèse, il suffisait de percer de haut en bas ces bouchons de collodion tour à tour pour prélever six fractions à peu près d'égale volume.

II/- LES FRACTIONS DE L'ELECTROPHORESE DE TISELIUS -

D'après les travaux de DOLE (22), STERLING (II5-II6), ARMSTRONG (2), ZOLLNER (I37), WIEDEMANN (I32), portant au total sur une centaine de cas, les fractions protidi-ques du sérum se répartissent selon les proportions sui-
vantes :

Albumine	59 %
Alpha I	5,6 %
Alpha 2	9,2 %
Beta	13,5 %
Gamma	12,6 %

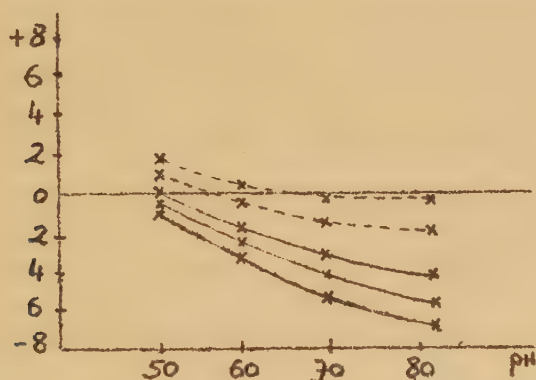
a)- Mobilité -

Les fractions obtenues par l'électrophorèse sont, par définition même, des constituants de mobilité différent dans un champ électrique. Cette mobilité varie en fonction du pH, de la force ionique, de la température. Elle s'ex-
prime en $\text{cm}^2 \cdot \text{Volts}^{-1} \cdot \text{sec.}^{-1} \times 10^5$ et à 0°, à force ionique constante, ses variations selon le pH sont carac-
téristiques de chaque fraction. Le tableau ci-dessous, de STENHAGEN (II4), indique cette mobilité selon le pH :

<u>Tampon</u>	<u>pH</u>	<u>Albumine</u>	<u>Alpha</u>	<u>Beta</u>	<u>Gamma</u>
Acétate	5,2	- 2,0	non séparée	- 0,1	+ 1,5
Phosphate	5,6	- 3,2	- 2,4	- 0,9	+ 0,5
"	6,1	- 3,9	- 3,0	- 1,7	+ 0,2
"	6,9	- 5,5	- 4,4	- 3,0	- 0,1
"	8,0	- 7,7	- 6,1	- 4,2	- 0,9
pH isoélectrique		(4,60)	(4,8)	5,2	6,4

(Ce tableau indique la mobilité des fractions lorsqu'on fait l'électrophorèse dans son ensemble. Elle est un peu différente lorsqu'on l'étudie sur des fractions séparées).

Le schéma ci-dessous de TISELIUS (125) objective bien ces mobilités en fonction du pH. Il montre que c'est pour un pH légèrement supérieur à 8 qu'on a la meilleure séparation des fractions. C'est pourquoi on emploie aujourd'hui en général un pH de 8,6 pour l'électrophorèse.



Il est intéressant d'étudier ce que représentent ces fractions électrophorétiques au regard des méthodes antérieures.

b)- Etudes des fractions électrophorétiques à l'ultracentrifugation -

En ce qui concerne l'ultracentrifugation, TISELIUS (125) a montré que la fraction albumine a une vitesse de flottation (unités SVEDBERG) de $S = 4,7$, ainsi qu'une masse moléculaire de l'ordre de 72.000 ; elle contient cependant une trace de matériel de haute constante de sédimentation

(environ 17), mais aucune trace de globulines.

La fraction gamma globuline donne presque exclusivement un composé de $S = 7$ avec une masse moléculaire de l'ordre de 150.000 ainsi qu'une trace de composé plus lourd de $S = 18$.

Quant à l'alpha et beta, elles donnent une fraction à peu près semblable de $S = 6,7 - 6,8$, légèrement inférieure à celle de gamma, mais des fractions importantes plus légères ($S = 3,5$) et plus lourdes ($S = 18$).

Ainsi, au regard de l'ultracentrifugation, si albumine et globuline gamma sont relativement homogènes, aucune fraction en fait n'est vraiment pure.

Inversement d'ailleurs, des trois fractions de l'ultracentrifugation, PEDERSEN (87) a montré que la quantité d'albumine de $S = 4,5$ est très supérieure à celle de l'électrophorèse et contient une partie importante de lipoprotéines, la fraction globuline de $S = 7$ ainsi que la fraction en petite quantité de $S = 17 - 18$, (dite encore composé 20 parce que sa vitesse de flottation est proche de 20), avec une masse moléculaire de l'ordre de 1 million, sont des mélanges des différentes globulines ; enfin, le composé X de $S = 6$ est un complexe dissociable d'albumine et de globuline.

c)- Etude des fractions électrophorétiques par relargage -

En ce qui concerne les méthodes de précipitation, on arrive également à fractionner par dialyse ou relargage les fractions électrophorétiques.

Ainsi, COHN (17) a montré qu'il suffit de soumettre à la dialyse une gamma globuline électrophorétique homogène pour la séparer en deux fractions, l'une soluble dans l'eau qui reste homogène, et l'autre insoluble qui se décompose alors à l'électrophorèse en trois constituants. Mais, même la fraction soluble qui est homogène à l'électrophorèse et à l'ultracentrifugation n'a pas une solubilité constante et ne peut pas donc être considérée comme un corps pur.

Inversement, les méthodes de fractionnement chimique ne permettent pratiquement pas d'obtenir des fractions électrophorétiquement pures. Parmi celles-ci, nous citons surtout le fractionnement de COHN (17) par l'alcool éthylique à concentration croissante à basse température. Elle permet d'obtenir des gamma globulines assez pures, assez homogènes à l'électrophorèse (mais non à l'ultracentrifugation où elles sédimentent comme des globulines légères mais sont accompagnées de globulines lourdes). Les albumines sont également assez pures. Enfin, on obtient des fractions particulièrement riches en alpha, des fractions particulièrement riches en bêta mais loin d'être homogènes.

DERRIEN (21), établissant des courbes de relargage d'après cent vingt-et-un points expérimentaux, note l'existence d'un assez grand nombre de fractions dont il semble que quatre d'entre-elles puissent correspondre aux gamma globulines, deux aux beta, deux aux alpha, quatre ou cinq aux albumines.

Enfin, les données de l'immuno-chimie, le grand

nombre des anticorps évoquent bien l'existence de protéines multiples, surtout des globulines, différant plus ou moins entre elles.

On peut conclure avec DUBUISSON (23) que "l'électrophorèse a permis de reconnaître trois familles de globulines alpha, beta et gamma, chaque famille étant constituée d'une collection d'individus oscillant autour d'une même norme électrophorétique".

d) - Composition des fractions électrophorétiques -

De plus, l'étude chimique de ces fractions protidiques a montré qu'elles contenaient un certain pourcentage de substances diverses et en particulier des lipides, des glucides du cholestérol.

Lipoprotéines du sérum -

Déjà, dès 1932, BENNHOLD (7), ajoutant au sérum du soudan III, constatait que celui-ci migrerait lors de l'électrophorèse avec les globulines ; bien plus, la réaction de Libermann était obtenue dans la zone des globulines alors qu'elle était négative dans celle de l'albumine. Il en concluait que le cholestérol était lié uniquement aux globulines. MELLANDER (77), en 1935, arrivait à des résultats assez différents. Il dosait le cholestérol dans le contenu de différentes cellules du tube en U de THEORELL. Du côté de l'anode, il trouvait une petite quantité de cholestérol, migrant en avant de l'albumine. Il en retrouvait également avec l'albumine et en

proportion variable dans les cellules contenant des globulines.

BLIX, TISELIUS et SVENSSON (12), en 1941, ont repris la question avec l'appareil de TISELIUS et ont montré qu'il existait du cholestérol et des lipides dans toutes les fractions. Chez l'homme, c'est la fraction beta qui en renferme le plus, la fraction gamma étant la moins riche, l'albumine en contenant très peu.

Teneur en lipides % des fractions protidiques.-

	<u>Albumine</u>	<u>Alpha</u>	<u>Beta</u>	<u>Gamma</u>
Cholesterol	1,07	4,45	8,65	0,41
Phospholipides	2,25	7,25	10,0	1,0

On voit que la beta globuline peut contenir des lipides dans la proportion de 20% de son poids sec ; isolée, elle donne des solutions plus ou moins opalescentes ; la délipidation du sérum par un procédé peu brutal a montré à LONGSWORTH et à Mac INNES (64) que la fraction électrophorétique beta était réduite de façon importante. Enfin, BLIX (11) a observé que lorsqu'on ajoute à du sérum délipidé du cholestérol, celui-ci se fixe sur les beta globulines. Plus récemment, VARGUES et ses collaborateurs (124) ont remarqué que chez le lapin soumis au régime hyperlipidique la fraction beta s'élevait parallèlement au cholestérol.

" Le résultat de ces analyses montre que les lipides présents dans la solution de protéines séparées électrolytiquement ne sont pas libres, mais dans une large mesure liées aux protéines d'une manière inconnue et les accompagnent

indissolublement dans leur déplacement sous l'influence d'un champ électrique". (BLIX).

C'est à ces groupements que MACHEBOEUF (69) a donné le nom de cénapses lipido-protidiques. Il les a particulièrement étudiés, aboutissant par des fractionnement successifs à des composés lipido-protéiniques relativement stables contenant une proportion constante de protéines et de lipides et pour lesquelles il a émis une hypothèse de liaison physico-chimique dont les travaux ultérieurs ont vérifié l'exactitude.

Les travaux modernes de fractionnement chimique de COHN et de ses collaborateurs ont permis de reconnaître l'existence de deux lipoprotéines nettement différenciées et d'étudier leurs propriétés physiques, chimiques et électrophorétiques.

Les lipoprotéines alpha sont des pseudo-globulines solubles dans l'eau en l'absence d'électrolyte, elles contiennent environ 35 % de lipides et le rapport $\frac{\text{cholestérol}}{\text{phospholipides}}$ y est d'environ 0,52 chez le sujet normal avec des petites variations allant de 0,44 à 0,62 (RUSS, EDER, BARR (105), ONCLEY et LEVER (84) ; elles migrent à l'électrophorèse avec les globulines alpha 1. Leur poids moléculaire serait de l'ordre de 300.000. Leur molécule serait asymétrique, ayant la forme d'une ellipsoïde de révolution ayant une longueur de 300 Å et une largeur de 40 Å. Elles contiendraient environ le 1/4 des lipides présents dans le sérum du sujet normal à jeun. Ces caractères permettent de l'assimiler à la lipoprotéine isolée par MACHEBOEUF.

Les lipoprotéines beta sont des euglobulines de point isoélectrique voisin de 5,6. Elles renferment 25 % de protéines, 30 % de phospholipides et 45 % de cholestérol. Le rapport cholestérol y est d'environ 1,34 chez le sujet normal avec phospholipides d'assez larges variations selon les sujets de 1,10 à 1,50 (RUSS et coll., ONCLEY, GURD et MELIN) (83). Elles migrent à l'électrophorèse avec les globulines beta, leur poids moléculaire est de l'ordre de 1.300.000, leur molécule serait de forme sphérique avec un diamètre de 185 Å. La vitesse de flottation s'inscrit entre 2 et 8 unités Svedberg (GOFMAN) (33). C'est au niveau des beta globulines que se rencontrent également des lipoprotéines plus lourdes de S 20 = 17-18 dont GOFMAN a montré la particulière abondance dans l'athérosclérose.

Les beta lipoprotéines contiendraient approximativement les 3/4 des lipides sériques de l'homme normal à jeun.

Ainsi, le fractionnement chimique a permis d'établir l'existence de 2 lipoprotéines bien distinctes. Il n'en reste pas moins que cela ne rend pas parfaitement compte des résultats des dosages du cholestérol et des lipides de MELLANDER (77), ni de ceux de BLIX, TISELIUS et SWENSON (12) qui montraient la présence de lipides, certes en proportion moindre, mais néanmoins certaine, dans l'albumine et les alpha globulines. RUSS, EDER et BARR (105), par le fractionnement chimique, trouvent également un pourcentage moyen dans la fraction II de COHN qui contient essentiellement des gamma globulines, de 2,4 % de cholestérol, avec des variations de 0 à 8,6 %.

Les glucides du sérum -

Le fractionnement des gluco-protéines est loin d'être aussi précisé que celui des lipoprotéines. Certes, plusieurs gluco-protéines, de propriétés chimiques et biologiques bien définies, ont pu être isolées mais ni l'électrophorèse en solution libre, ni les méthodes de relargage n'ont permis le fractionnement complet des gluco-protéines.

C'est BIERRY (9) qui, en 1928, devait mettre en évidence l'existence des polysides ou polysaccharides unis à des protéines et ne pouvant en être séparés que par une hydrolyse assez énergique.

A peu près simultanément, EVERETT et SHEPPARD (28) arrivaient aux mêmes résultats.

RIMINGTON (100), l'année suivante, isolait 2 polysides de l'albumine et des globulines.

HEWITT (45), en 1934, obtenait à partir du sérum de cheval 2 fractions gluco-protéiques dans l'albumine : le globoglycoïde qui contenait 4,6 % de glucides, le séroglycoïde qui contenait 8,6 % de glucides.

NILSON (82), en 1937, dosant l'hexosamine dans le sérum, trouvait les proportions de 0,52 % dans l'albumine (entre 0,37 et 0,65) et de 2,18 % dans les globulines (entre 1,66 et 2,73).

En 1939, MAC MEEKIN, puis KEKWICK (53) obtenaient à partir du serum de cheval des glucoprotéines cristallisées de mobilité beta 1.

Enfin, BLIX, TISELIUS et SVENSON (12), étudiant les fractions séparées par l'électrophorèse, dosaient le sucre dans chacune de ces fractions et montraient qu'elles en contenaient toutes.

Teneur en glucides % des fractions protidiques

<u>Albumine</u>		<u>Globulines</u>		
		<u>Alpha</u>	<u>Beta</u>	<u>Gamma</u>
Sérum I	1,1	-	8,3	3,6
Sérum II	1,2	6,1	6,2	3,0

Les glucoprotéines se définissent par la combinaison d'une protéine avec un polyside. La nature de la liaison plus ou moins labile qui les unit est encore mal connue. On peut parler avec MACHEBOEUF (69) de cénapses glucido-protidiques. Dans certains cas, il semble qu'il s'agisse de liaisons électrovalentiellles entre les fonctions acides du polyside et les groupements NH₂ des protéines.

Ces polysides contiennent en général de l'hexosamine (sucre aminé résultant du remplacement du deuxième oxydrile d'un hexose, glucose ou galactose par une fonction aminée) et on leur donne le nom de mucopolysaccharides (MEYER) Ceux-ci peuvent être neutres ou acides.

= Les mucopolysaccharides neutres libèrent à l'hydrolyse un hexose (mannose ou galactose) et une hexosamine parfois acétylée.

= Les mucopolysaccharides acides contiennent en proportion équimoléculaire le plus souvent à côté de l'hexosamine et des oses réducteurs des acides uroniques. Certains contiennent de plus de l'acide sulfurique (mucopolysaccharides complexes).

Dans le sérum humain, plusieurs glucoprotéines ont pu être isolées, définies, chimiquement et électrophorétiquement :

1- Des glucoprotéines à mucopolysaccharides neutres, parmi lesquelles :

= L'haptoglobine, découverte par POLONOVSKI et JAYLE (48), dont le taux sérique suit parallèlement celui des alpha 2 globulines avec lesquelles elle migre. On sait que ce taux est augmenté de façon importante dans le R.A.A., la tuberculose et chaque fois qu'il y a nécrose tissulaire, dans l'infarctus du myocarde par exemple.

= Plusieurs stimulines hypophysaires : thyro-stimuline, hormones gonadotropes chorioniques, folliculo-stimuline (F.S.H.), lutéino-stimuline (L.H.) qui migreraient avec les beta globulines.

= La protéine C, découverte par ABERNETHY et AVERY (1), n'apparaît qu'au cours de certains états pathologiques, mise en évidence par sa propriété de flocculer avec le polyside C non spécifique du pneumocoque. Elle migrerait avec les alpha 1 comme l'ont montré HEDLUND (44) et PERLMAN (88).

2- Des gluco-protéines à mucopolysaccharides acides, parmi lesquelles :

= L'héparine, qui migrerait également avec l'albumine

= L'anti-hyaluronidase non spécifique qui augmenterait dans certains processus inflammatoires et qui a la vitesse électrophorétique de l'albumine.

En résumé, les méthodes de fractionnement du sérum que nous avons étudiées jusqu'ici avaient permis de reconnaître un certain nombre de fractions protidiques dont les plus intéressantes, au moins par leur signification clinique, sont les fractions électrophorétiques albumine, alpha 1, alpha 2, beta et gamma. De plus, les études chimiques avaient reconnu deux lipoprotéines bien distinctes, les alpha et les beta lipoprotéines. Enfin, on avait pu isoler un certain nombre de gluco-protéines du sérum humain normal ou pathologique, dont on avait éprouvé les propriétés électrophorétiques : l'haptoglobine migrant avec les alpha 2, la protéine C avec les alpha 1, héparine et antihyaluronidase non spécifique avec les albumines, stimulines hypophysaires diverses de mobilité égale à celle des beta globulines.

Mais en définitive, bien qu'extrêmement intéressant du point de vue scientifique, l'ensemble de ces découvertes n'avait guère pu recevoir d'application médicale pratique courante utilisable dans la clinique de chaque jour et restait du domaine de quelques rares laboratoires hautement scientifiques.



III/- TESTS D'ANOMALIE SÉRIQUE DANS LA PRATIQUE

COURANTE -

On s'est efforcé de pallier à l'absence de données directes sur l'état des fractions sériques du malade par des méthodes diverses dont les rapports avec les données électrophorétiques ont été bien étudiés notamment par KAUTSCH, OSWALD et HOFMANN (51).

La formol-gélification de GATE et PAPACOSTAS (1920).

La vitesse de sédimentation de WESTERGREN, en 1924, qui, comme on le sait aujourd'hui, répond surtout aux anomalies des globulines alpha 2 et de l'haptoglobine, mais est influencée aussi par le fibrinogène, et à des degrés variables par les modifications des autres globulines.

Le quotient sérine/globuline introduit en clinique par ROHRER, en 1922, qui est normalement supérieur au rapport obtenu par électrophorèse.

Les réactions de floculation parmi lesquelles les plus intéressantes, selon CHIRAY et Ch. DEBRAY (16), sont :

= Le thymol-test de Mac LAGAN (1944), introduit en France et adapté au photomètre de Vernes en 1946 par Melle JOURDAIN (49) et le cephalin-cholesterol-test de HANGER (1938). Ces deux test répondent à une floculation due à des liaisons organiques réalisées entre les globulines pathologiques et les

substances mises en présence. La réaction de Hanger semble dépendre uniquement des globulines gamma. Par contre, le mécanisme du thymol-test est encore mal connu et semble relever de la baisse de l'albumine, de l'hyperglobulinémie beta et gamma ... Nous y reviendrons.

= La réaction de GROS (1940) au chlorure mercurique dont les mesures électrophorétiques de VERSCHURE ont montré qu'elle était fonction du rapport albumine/globuline gamma.

= La réaction au sulfate de cadmium de WUNDERLY et WÜHRMANN (1947), positive non seulement s'il existe une augmentation des globulines gamma ou une diminution de l'albumine, mais aussi en présence d'hyperglobulinémie alpha, témoin habituel de l'infection.

= La réaction de KUNKEL au sulfate de zinc (1947), introduite en France par A. VARAY et Helle FRANTZ (1949), qui serait une réaction spécifique des globulines gamma.

En fait, la plupart de ces tests ont une spécificité qui laisse beaucoup à désirer et ils n'apportent rien de plus que le témoignage qu'il existe une anomalie sérique, qu'il est bien difficile en général de localiser.

C'est dire l'intérêt de la dernière méthode de fractionnement sérique, l'électrophorèse sur papier de WIELAND, découverte en 1948.

IV/- L'ELECTROPHORESE SUR PAPIER -

PRINCIPE -

Le principe de l'électrophorèse sur papier est extrêmement simple. L'appareil se réduit à une feuille de papier filtre imbibé de solution tampon sur laquelle on a déposé le long d'une ligne de départ les échantillons à analyser. Ses extrémités plongent dans deux récipients contenant de la solution tampon et portés à une différence de potentiel convenable.

Après un certain temps de passage du courant, le sérum s'est séparé en fractions bien distinctes que l'on peut éluer en vue des dosages chimiques les plus divers ou révéler sur la bande de papier par des colorants appropriés qui permettront de mettre en évidence non seulement les protides mais aussi les lipides et les glucides. On conçoit les avantages extraordinaires de cette méthode : économie de temps, l'électrophorèse durant selon les techniques de quatre à quatorze heures, économie de sérum, la quantité nécessaire étant tout au plus de quelques dizaines de millimètres cubes, économie d'argent, sa simplicité le mettant à la portée de tout laboratoire médical. Elle va donc permettre une utilisation clinique quotidienne. Bien plus, alors qu'elle fut mise au point pour établir une technique approximative moins onéreuse et

moins laborieuse que l'électrophorèse classique, elle s'est révélée beaucoup plus précieuse qu'on ne pouvait le prévoir : elle permet non seulement les études qualitatives en grande série, mais elle peut fournir des résultats quantitatifs assez précis ; elle peut déceler certaines hétérogénéités que ne révèle pas l'électrophorèse classique, surtout elle objective l'ensemble des fractions sériques, protides, lipides ou glucides, réalisant en un mot un sérogramme électrophorétique qui dépasse largement en intérêt tous les renseignements fragmentaires que l'on avait jusqu'alors et qui permet de la considérer d'ores et déjà comme une méthode de diagnostic paraclinique d'une exceptionnelle valeur.

HISTORIQUE -

Ce sont deux auteurs allemands, KÖNIG et Von KLOBUSITZKY (54), qui eurent les premiers, dès 1939, l'idée d'une électrophorèse sur papier ("électro-capillarisation"). Pour étudier les propriétés électriques du venin du serpent Bothrops, ils utilisèrent des bandes de papier filtre de 1 x 5 cm. humidifiées d'une solution tampon et dont les deux extrémités étaient réunies à une source de courant continu. Mais ces travaux restèrent dans l'ombre du fait sans doute de leur objet bien spécial et c'est en fait WIELAND et FISCHER (133) qui, en 1948, ont été les promoteurs de l'électrophorèse sur papier filtre qu'ils appliquèrent d'abord à la séparation des acides aminés à des pH variables. Un an

plus tard, TURBA et ENENKEL (128), WIELAND et WIRTH (134) appliquaient cette même méthode au sérum en même temps que de leur côté, BISERTE à Lille (10) décrivait un appareil du même genre et DURRUM (25) en Amérique mettait au point un appareil à électrophorèse où le papier en V renversé était élevé en son milieu par un chevalet et retombait de part et d'autre dans deux bacs contenant la solution tampon.

De l'électrophorèse sur papier, il faut rapprocher l'électrophorèse sur fécule de pomme de terre (KUNKEL et SLATTER) (59) qui permet la séparation de volumes plus importants de sérum, et l'électrophorèse sur papier continu (GRASSMANN et HANNIG (38), DURRUM (25)) sur feuille verticale qui n'est peut-être pas encore tout à fait au point mais qui doit permettre dans un proche avenir d'obtenir des fractions électrophorétiques vraiment pures et en quantité voulue.

S APPAREILS A ELECTROPHORESE SUR PAPIER -

Extrêmement simples dans leur principe, les appareils à électrophorèse sur papier sont de deux types :

- l'un dit "d'électrophorèse à plat" où la bande de papier est tendue horizontalement ;

- l'autre où la bande de papier repose sur un chevalet et retombe presque verticale de part et d'autre dans des bacs contenant le tampon.

L'électrophorèse à plat -

Le type en est l'appareil princeps de WIELAND (133). Celui-ci consistant en une cuve de verre à l'intérieur de laquelle était une bande de papier filtre d'environ 20 cm. de long sur 1 à 4 cm. de large, humidifiée de solution tampon et dont les deux extrémités pendaient hors de la cuve dans des boîtes de Pétri remplies du même tampon et reliées à un courant continu de 110 volts sous faible ampérage. C'est ce même appareil qu'utilisèrent TURBA et ENENKEL (128).

DURRUM (24), qui avait expérimenté un appareil de même type lui faisait deux reproches : d'une part les zones de protéines sont souvent mal limitées, à cause du siphonnage de solution tampon vers le point décline du papier inondant cette région, d'autre part l'évaporation et la température à la surface du papier ne peuvent être contrôlées réellement, sont importantes et entraînent des perturbations hydrostatiques non négligeables.

C'est pour les mêmes raisons que CREMER et TISELIUS, en 1950, (18), plongeaient la bande de papier prise entre deux plaques de verre dans le bac à électrophorèse rempli de chlorobenzène qui empêchaient l'évaporation et maintenaient une température à peu près courante. BISERTE (10), de son côté, faisait reposer le papier sur une plaque de verre refroidie par des courants d'eau et le recouvrait d'une couche de deux millimètres de paraffine. CAMPBELL (15) de

même refroidissait le support du papier par un courant d'eau froide.

Nous avons expérimenté personnellement au début de nos travaux sur l'électrophorèse l'appareil de CREMER et TISELIUS et les fractionnements que nous obtenions n'étaient guère satisfaisants. DURRUM, expérimentant un appareil de même type, trouvait que dans maintes expériences des flaques d'électrolytes étaient observées, se collectant irrégulièrement entre les plaques de verre, surtout latéralement au bord du papier, sans doute par capillarité et rendaient irréguliers le champ électrique et la diffusion des fractions protidiques dans ces aires. Cet effet, d'après lui, serait très diminué en superposant trois bandes de papier ou en utilisant un papier filtre fort qui éloigne les plaques de verre l'une de l'autre d'au moins 1/2 mm.

SONNET et RODHAIN (111) notent que lorsqu'une bande de papier filtre est placée entre deux plaques de verre, comme il en est dans la méthode de CREMER et TISELIUS, il est difficile de diminuer l'appel d'eau dans le papier et dans la fente délimitée par les deux plaques de verre. Ce flux excessif de liquide permet sans doute de raccourcir l'électrophorèse, mais il rend les taches très floues, même quand on emploie un papier épais comme le MUNKTEL N° 20 que conseillait TISELIUS.

En définitive, nous ne pensons pas, malgré les avantages théoriques, que les résultats obtenus en suivant la méthode de CREMER et TISELIUS compensent les inconvénients techniques et le désagrément que représente l'emploi du chlorobenzène et nous préférons, parmi les appareils d'électrophorèse à plat, comme SONNET et RODHAIN (loc. cit.) et la plupart des auteurs actuels, un appareil simple proche de l'appareil original de WIELAND, tel que celui de GRASMANN et HANNIG qui, malgré une certaine irrégularité de ses résultats, nous a permis en général d'obtenir de bons protéinogrammes (il n'en est pas de même, nous le verrons, pour les lipodogrammes). La tension du papier à ses deux extrémités sur un portoir permet de limiter son incurvation lors de l'électrophorèse et à condition d'avoir un niveau strictement égal du tampon dans les compartiments anodique et cathodique, les phénomènes de siphonnage sont peu importants. Quant à l'évaporation, il s'établit après une période assez courte un état d'équilibre avec la tension de vapeur de la cuve qui la limite beaucoup.

Le seul inconvénient est la condensation de gouttelettes d'eau sur le couvercle de la cuve qui, en tombant sur le papier, peuvent créer des perturbations assez importantes. Il est facile d'y remédier en plaçant, par exemple, une gaze au-dessous du couvercle.



Sch. 3

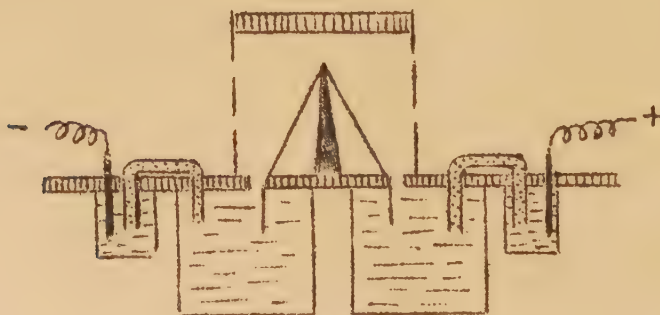
L'électrophorèse type DURRUM -

Très différent est l'appareil de DURRUM (24) dans son aspect et dans ses principes. Le papier repose ici sur un chevalet haut d'une dizaine de centimètres et retombe de part et d'autre en V renversé dans deux bacs contenant la solution tampon, l'ensemble étant rendu étanche par un troisième bac coiffant le papier. L'appareil ainsi conçu modifie les conditions de l'électrophorèse, et le déplacement des fractions, comme l'a montré DURRUM, est fonction d'un équilibre relativement complexe qui inclut nombre de processus simultanés :

- la migration des ions protéiniques due au champ électrique,
- la diffusion,
- le flux électroendosmotique,
- l'évaporation d'eau de la bande de papier due à la chaleur dégagée par le courant électrique,
- l'équilibre hydrodynamique entre l'appel d'eau par l'évaporation, les forces capillaires et la pesanteur,

- les modifications de la résistance électrique le long du papier en rapport avec les deux derniers facteurs.

C'est l'appareil de DURRUM que MACHEBOEUF et REBEYROTTE (71) ont introduit en France en y apportant une modification minime mais de grosse importance théorique. Alors que jusque là tous les auteurs, nous l'avons vu, s'efforçaient de supprimer l'évaporation à la surface du papier pour éviter, d'une part les modifications dans la concentration des électrolytes, d'autre part des perturbations hydrostatiques difficiles à contrôler par suite de l'afflux de liquide dans le papier ces auteurs ont au contraire accepté l'évaporation comme inéluctable, ont cherché à la régulariser simplement au moyen d'orifices percés dans le couvercle de l'appareil et à l'utiliser.



Sch. 4

C'est cet appareil de DURRUM ainsi modifié qui nous a donné les meilleurs résultats au cours de nos travaux et nous étudierons, selon MACHEBOEUF et REBEYROTTE (71), les principaux facteurs, déjà signalés par DURRUM (voir ci-dessus),

qui déterminent la migration des protéines :

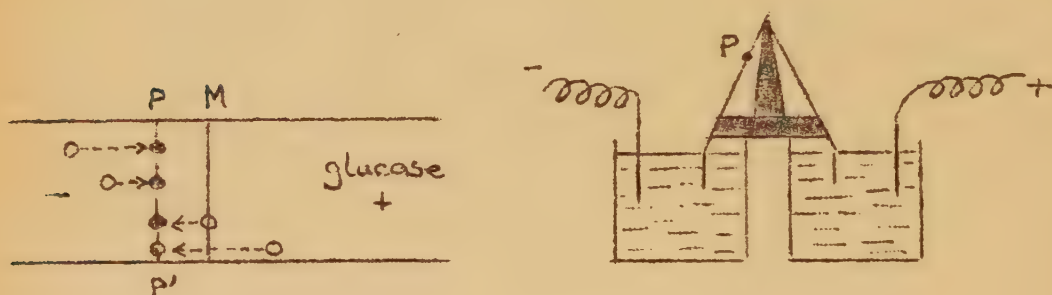
L'évaporation :

Le liquide au sein du papier est échauffé par le courant électrique. De l'eau s'évapore et sera constamment remplacée par du liquide tampon puisé dans les bacs. Il y aura donc un mouvement ascensionnel constant du liquide des deux bacs vers le sommet. Le débit n'en sera pas le même à tous les niveaux du papier ; à travers une section très proche des bacs, devra passer tout le liquide nécessaire pour compenser l'évaporation sur l'ensemble de la feuille, tandis qu'à travers une section située par exemple à mi-distance du sommet le liquide qui passe sera seulement celui nécessaire à compenser l'évaporation dans la moitié supérieure du papier du même côté. Ainsi, s'il n'existait aucune autre cause de mouvement du liquide dans le papier que l'évaporation, le flux liquide serait nul au sommet.

L'électroendosmose :

Mais le champ électrique produit au sein du papier un écoulement de liquide par électroendosmose allant de l'anode vers la cathode et le même à tous les niveaux. En somme, le liquide contenu dans le papier se déplace en fonction de la somme algébrique de ces deux écoulements, l'un dû à l'évaporation pendant l'électrophorèse, l'autre dû à l'électroendosmose. Ce dernier se déplace vers la cathode, à 3 ou 4 cm. en arrière du sommet, au point P la zone où le liqui-

de est immobile. Partout ailleurs, le liquide se déplace avec une vitesse d'autant plus grande que le point considéré est plus éloigné de P. Le sens du déplacement est inverse de part et d'autre de P car le liquide se dirige constamment vers lui. Une substance insensible au champ électrique suivant passivement les flux liquidiens sera finalement transportée, quel que soit son point de départ, au point P.



Schémas d'après MACHEBOEUF et REBEYROTTÉ.

La force électrophorétique :

Les fractions sériques subiront un déplacement électrophorétique par rapport au liquide contenu dans le papier, mais comme ce liquide est lui-même en mouvement, leur déplacement par rapport au papier sera la somme algébrique du déplacement électrophorétique + déplacement du liquide dans le papier.

Si le pH du liquide tampon est supérieur au pH isoélectrique d'une protéine, celle-ci se déplacera vers l'anode.

mais en s'éloignant de P, elle est de plus en plus freinée par le mouvement liquide de plus en plus rapide et de sens opposé. Elle parvient finalement en un point où le courant liquide équilibre exactement le courant électrophorétique ; en somme, grâce au déplacement du liquide dont la vitesse varie en fonction de l'éloignement, chaque type électrophorétique de protéines se trouve transporté, puis stoppé en un point différent caractéristique. Ainsi, la position définitive d'une fraction est indépendante de sa position initiale et de la durée de l'expérience, à condition que cette durée ait été suffisante pour que l'équilibre soit atteint.

Une dernière donnée doit cependant limiter la durée de l'électrophorèse. Le liquide tampon qui grimpe dans le papier pour remplacer l'eau qui s'évapore apporte les électrolytes qu'il contient. La force ionique du liquide dans le papier se modifie donc tout au long de l'expérience. La teneur en sel de la région du papier correspondant au point P est très augmentée après 4 heures, et après des expériences de trop longue durée on doit s'attendre à ce que ce facteur modifie, dans cette région, considérablement la mobilité électrophorétique.

Cet appareil de DURRUM, modifié par MACHEBOEUF et REBEYROTTE, comporte des avantages théoriques et pratiques considérables :

1°- D'abord, la durée moyenne d'une électrophorèse est de 5 heures, ce qui permet plusieurs expériences dans la journée et est fort avantageux par rapport à un appareil du type de l'électrophorèse à plat, tel que celui de GRASSMANN et HANNIG qui nécessite au moins 14 heures.

2°- Ensuite, on obtient une bonne séparation des éléments, très régulière, et ceci avec une migration peu étendue ne dépassant pas 7 à 8 cm. au maximum depuis l'origine, ce qui est, nous le verrons, un facteur capital pour l'obtention de fractions lipidiques de bonne qualité. Cette bonne séparation des fractions est due, comme l'a montré MACHEBOEUF (loc. cit.), au fait que la diffusion est limitée au minimum par l'action contraire du courant électrophorétique et du courant liquidien qui maintiennent, rassemblée au point d'équilibre, la fraction considérée.

3°- Enfin, elle permet d'utiliser des bandes de papier larges de 18 cm. qui rendent possible la réalisation, sur une même bande, des sérogrammes complets d'un témoin et d'un ou même deux malades.

Nous avons comparé les résultats obtenus dans le fractionnement protidique par l'Elphor et l'appareil de MACHEBOEUF sur 6 sérums normaux. Nous avons trouvé des résultats un peu différents tant par photométrie directe que par élution. En moyenne :

	<u>Albumine</u>	<u>Alpha I</u>	<u>Alpha 2</u>	<u>Beta</u>	<u>Gamma</u>
MACHEBOEUF	54,4	6,1	8,9	12,9	17,7
Elphor	57,7	5,9	8,7	12,2	15,5

Cette expérience était faite avec le même tampon, mais avec des papiers différents : le papier d'Arches 30I dans un cas, le papier Elphor dans l'autre. Nous avons pensé que la cause de la différence de l'albumine et des globulines gamma devait résider dans une adsorption différente des deux papiers. L'adsorption d'albumine serait, d'après F.P. MERKLEN (78), d'autant plus forte que le papier serait plus épais, ce qui concordait parfaitement avec ces résultats.

Une contre-expérience, faite sur 3 cuves Elphor, avec dans chacune une bande de papier Elphor et une bande de papier d'Arches, nous a cependant donné des résultats exactement comparables sur ces deux papiers.

A REVELATION DES FRACTIONS SÉRIQUES -

I) - Le fractionnement protidique -

WIELAND (133), en 1948, en même temps qu'il ouvrait l'ère de l'électrophorèse sur papier, étudiait déjà pour les acides aminés une révélation sur bande électrophorétique (utilisant la propriété qu'ont les acides aminés de former avec le cuivre des complexes colorés) et mettait au point deux méthodes quantitatives, l'une par

extraction des fractions obtenues et dosage chimique, l'autre directement sur la bande de papier par "rétentionométrie" avec l'acétate de cuivre dans le tétra-hydrofurane qui donnait une courbe permettant l'évaluation quantitative des fractions.

Il appliquait, en 1950, la rétentionométrie au fractionnement sérique. Mais, la même année, TURBA et ENENKEL (128) d'une part, proposaient la coloration par l'azocarmine, d'autre part, DURRUM (24), CREMER et TISELIUS (18) coloraient les protides par le Bleu de bromophénol. L'élution des colorants fixés permettait, dans une certaine mesure, l'appréciation quantitative. Enfin, en 1952, GRASSMANN et HANNIG (36, 37) apportaient la coloration par l'Amidoschwarz et la possibilité de lecture directe, au moyen d'un électrophotomètre spécial, de la bande de papier rendue translucide par un mélange d'huile de vaseline et de bromonaphtalène.

Les méthodes de coloration -

Ainsi, les colorants utilisés pour la révélation des protéines sont au nombre de trois.

Le Bleu de Bromophénol en solution à 1 % dans le méthanol saturé de Hg Cl_2 qui colore les protéines en même temps que le chlorure mercurique les fixe. Le simple lavage à l'eau des bandes permet d'enlever le bleu des zones de papier où il n'y a pas de protéines.

Finalement, les fractions protidiques apparaissent

sous forme de taches colorées en bleu pâle; cette coloration est relativement peu intense.

L'Azo-Carmin, utilisé à ses débuts par TURBA, ENENKEL (128) est aujourd'hui pratiquement abandonné. Sa préparation et sa technique étaient analogues à celles de l'amido-Schwartz que nous allons voir. Il donnait des colorations allant du rouge au pourpre.

L'Amido-Schwartz, beaucoup plus utilisé actuellement, est un colorant sulfoné et acide qui se fixe sur les cations protidiques en milieu acide. On l'emploie sous forme d'une solution saturée dans le méthanol avec 10 % d'acide acétique glacial. Cette solution est parfaitement stable et peut servir durant plusieurs semaines. Les bandes y sont plongées après fixation des protéines par le séchage, au mieux à l'étuve à 100°, 120°. Après coloration, elles sont débarrassées de leur excès de colorant par lavages répétés dans le même solvant jusqu'à ce que le fond du papier non chargé de protéines soit devenu d'un bleu très pâle. Les fractions protidiques apparaissent alors comme des bandes ou des taches bleues noires foncées, faciles à lire.

La valeur de ces colorants, notamment Bleu de Bromophénol et Amido-Schwartz, est, du point de vue

qualitatif, indiscutable. Ils donnent, sur les bandes électrophorétiques, une visualisation excellente des différentes fractions protidiques, albumine, alpha I, alpha 2, beta et gamma.

Les méthodes d'évaluation quantitative -

La valeur des études quantitatives à partir de ces bandes colorées est beaucoup plus discutée. Elles peuvent se faire selon deux méthodes : l'élution ou la lecture directe des bandes rendues auparavant transparentes.

Fixation du colorant sur les fractions - Facteurs de correction éventuels -

Mais quelle que soit la méthode employée, l'évaluation quantitative est avant tout fonction de la fixation du colorant sur les diverses fractions protidiques.

Etant donné leurs différences structurales, on pouvait s'attendre à ce que, dans les sérums normaux et a fortiori dans les conditions pathologiques, l'albumine et les différentes globulines ne fixent pas le colorant d'une façon identique. D'une façon générale, les matières colorantes se fixeraient davantage sur l'albumine que sur les globulines et parmi elles, la beta globuline serait celle dont la coloration semblerait la plus déficitaire.

CREMER et TISELIUS (18), KUNKEL (61), puis SCHNEIDER (106) ont montré dès leurs premiers travaux que le bleu de

bromophénol se fixe plus intensément sur les albumines que sur les globulines et ont proposé de multiplier les extinctions correspondant aux globulines par un facteur de correction commun qui varie selon les travaux de 1,3 à 1,6. KOIW et ses collaborateurs (57), ESSER et ses collaborateurs (27) ont tenté de calculer la correction nécessaire aux différentes fractions globuliniques aussi bien dans les cas normaux qu'e dans les cas pathologiques pour obtenir des proportions semblables à celles de l'électrophorèse classique.

Les premiers ont trouvé des facteurs de correction très variables d'un cas à l'autre ; le facteur de correction global des globulines varie entre 1,1 et 2,9.

Pour les alpha 1, de 0,9 à 5,5. Pour les alpha 2, 1,3 à 4,5 ; pour les beta, 1,3 à 8,1 ; pour les gamma, 1,1 à 2.

Les seconds proposent des facteurs de correction plus modestes : alpha 1; 2,36 ; alpha 2; 2,09 ; beta 2,20 et gamma 1,6.

L'irrégularité de ces facteurs de correction est à elle seule démonstrative des difficultés d'utiliser cette coloration pour une étude quantitative.

OTT, HABER et KORVER (85), étudiant l'azocarnin, trouvent pour les fractions protidiques des valeurs qui,

sans l'emploi des facteurs de correction, sont, disent-ils étonnamment parallèles à celles de l'électrophorèse libre. En fait, l'étude de leurs tableaux comparatifs montre que si l'albumine et les gamma globulines sont plutôt plus fortes dans l'électrophorèse sur papier (respectivement + 7% et + 1,2 %), les beta globulines sont régulièrement plus faibles (- 5,2 %) et les alpha I et alpha 2 bien que plus proches de leur valeur dans l'appareil de TISELIUS sont en général diminuées (- 1 à - 2 %).

BENNHOLD (7), bien avant l'électrophorèse, étudiant la liaison des colorants sur les albumines du sérum, avait d'ailleurs montré que les albumines et les globulines les fixaient de façon très différente. Ces travaux ont été repris cependant par PLUCKTHUN et GOTTING (90), qui, étudiant la coloration de solutions d'albumine et de globuline de quantité connue, ont trouvé qu'on pouvait admettre une coloration égale.

Quant à l'amido-schwartz, GRASSMANN et HANNIG ont montré que l'albumine fixe davantage le colorant que les globulines. Une molécule-gramme d'Amido-schwartz sature 380 mg. d'albumine et 1.230 mmg. de globulines. Les globulines alpha se comportent sensiblement comme les gamma, mais les beta ont une affinité nettement moindre. Il devrait donc y avoir des écarts importants avec les valeurs données par les méthodes d'électrophorèse libre. Or, par

photométrie directe, il n'en serait rien : les extinctions mesurées sont moindres aux valeurs élevées que ne laissaient prévoir les mesures faites aux concentrations faibles. Il se produirait ainsi une compensation négative pour l'albumine, positive pour les globulines, pour autant que les extinctions correspondantes se situent pour la première à 0,7, pour les secondes de 0 à 0,35 comme il en est dans la plupart des cas.

Cependant, MACHEBOEUF (72) considère que ces méthodes d'évaluation d'après les colorants ne peuvent servir à une analyse quantitative fine, que les coefficients en rapport avec la fixation différente des colorants sur les fractions ne sont valables que pour des sérums normaux car les lipides liés aux protéines de certaines fractions influent sur la fixation des matières colorantes.

Aussi conseille-t-il, pour une analyse plus juste, de ne colorer qu'une petite piste de la bande, de découper en fractions selon les indications de la piste colorée et d'éluer les protéines du papier pour les doser elles-mêmes par la réaction colorée de FOLIN et CLOUETTEAU.

Sans doute s'agit-il là d'une méthode plus scientifique, mais elle n'est pas dénuée elle-même de toute cause d'erreur (notamment du fait de l'adsorption

d'albumine sur laquelle nous reviendrons) et elle est peu applicable dans la pratique courante. En fait, l'évaluation quantitative, d'après la coloration, des fractions protidiques par l'Amido-Schwartz nous paraît convenir parfaitement aux besoins de la pratique médicale quotidienne.

Les méthodes d'évaluation -

Les méthodes d'évaluation à partir de cette coloration sont, nous l'avons dit, de deux sortes :

- la photométrie directe de la bande de papier a été proposée par GRASSMANN et HANNIG (36) : la bande de papier d'abord rendue transparente en la plongeant dans un mélange d'huile de paraffine et d'alpha bromonaphthalène (dont l'indice de réfraction 1,51 est égal à celui du verre), est placée entre deux lames de verre et passée de millimètre en millimètre devant une fonte lumineuse de 38 sur 1 millimètre. Une cellule photoélectrique placée en face enregistre la lumière non absorbée et est connectée à un galvanomètre gradué en densité optique. Les valeurs des extinctions permettent de construire une courbe à partir de laquelle, par planimétrie, on obtiendrait une évaluation quantitative du pourcentage des fractions.

Il faut signaler un point important : il est nécessaire que le trait des protéines couvre toute la longueur de la fente lumineuse, sinon les résultats sont gravement perturbés. La trop grande largeur de l'appareil de lecture (qui répond à celle des bandes de l'Elphor) est un inconvénient important, à notre avis, car un sérogramme complet devrait alors avoir 16 à 18 cm. de large.

Un autre appareil de lecture, l'appareil de la Maison LERES permet la photographie directe de la courbe d'électrophorèse, mais il y a deux gros désavantages : d'une part, il ne donne pas des densités optiques et ne permet en principe aucune mesure quantitative ; d'autre part, au lieu d'une fente couvrant toute la largeur de la bande électrophorétique, il y a juste ici un spot lumineux de 3 mm. de hauteur et la moindre irrégularité dans la forme des bandes ou dans la coloration peut entraîner des erreurs importantes.

L'intérêt de la photométrie directe est de donner une courbe qui, nous le verrons, est proche de celle que donne l'électrophorèse de Tiselius et qui permet surtout de voir sur les différentes bandes du sérogramme la position exacte des fractions par rapport aux fractions protidiques, ce qui est dans certains cas assez important.

Mais l'évaluation proportionnelle des fractions à partir de cette courbe nous paraît avoir une valeur

extrêmement douteuse, nécessite un temps relativement très long si on veut la faire bien et se heurte à des causes d'erreurs dont certaines sont difficiles à éviter.

La cause d'erreur essentielle est la détermination de la ligne de base. Pour l'électrophorèse classique, cela ne fait aucune difficulté : la ligne de base, dit WIEDEMANN, est celle qui joint le pied des lignes extrêmes de l'albumine et des gamma globulines.

Pour l'électrophorèse sur papier, par contre, la ligne de base n'est absolument pas définie. La plupart des auteurs n'indiquent pas ce qu'ils ont pris comme ligne de base. Nous avons interrogé à ce sujet quelques-uns de nos devanciers dans le fractionnement protidique. Leurs réponses ont été variées et se ramènent à deux types : les uns prennent la ligne qui répond à la valeur obtenue pour la teinte de fond bleutée du papier en dehors du sérum, c'est-à-dire en aval de l'albumine ou en amont des globulines gamma ; les autres prennent l'horizontale tangente au point le plus inférieur de la courbe entre l'albumine et globulines gamma (en général entre $\alpha 1$ et $\alpha 2$).

Un mathématicien, à qui l'on montrait quelques courbes, conseillait pour l'une d'entre elles de prendre une ligne intermédiaire qui seule, à son avis, permettrait la parfaite intégration des surfaces

Nous avons, pour notre part, cherché la ligne capable de nous donner les résultats les plus proches de ceux de l'électrophorèse classique. La ligne répondant à un point pris en avant du sérum nous donnait des valeurs beaucoup trop basses pour l'albumine et trop hautes pour les globulines. Par contre, l'horizontale tangente au pied alpha 1 - alpha 2 donnait des résultats plus corrects. Cela est dû sans doute à l'adsorption d'albumine depuis l'origine sur toute sa migration qu'ont bien montrée notre Maître, F.P. MERKLEN et MASEIEFF (78) et qui donne une coloration de fond bien plus importante sur toute la zone de migration du sérum qu'en dehors d'elle (1).

Néanmoins, cette ligne de base nous a donné des résultats souvent peu satisfaisants et l'absence d'une ligne de base précise est déjà un défaut très important.

La seconde critique que nous faisons à cette méthode est que le système de lecture en lumière blanche des deux appareils signalés plus haut soumet à des servitudes gênantes : en effet, pour permettre une étude comparative des protides sériques dans la pratique quotidienne, il faut, avec ces

(1)- Cette adsorption d'albumine tout le long de sa migration est sans doute l'explication de ce paradoxe que l'albumine bien que fixant, d'après les constatations de GRASMANN et HANNIG, une quantité bien supérieure de colorant que les globulines soit trouvée en proportion pratiquement normale dans l'électrophorèse sur papier quelle que soit la méthode d'évaluation.

appareils, que la quantité de sérum employée soit toujours la même et très basse. Il y a de grosses variations dans les proportions selon la quantité de sérum étudiée car lorsque la coloration de l'albumine s'accroît, étant donné qu'on ne travaille pas en lumière monochromatique, son taux est de plus en plus abaissé. Ainsi, pour un même sérum, si nous trouvons des taux d'albumine de 60 % à l'électrophorèse de 10 mm³, ce taux va tomber à 45 % si l'on emploie 40 mm³. Ceci oblige donc à faire des électrophorèses différentes pour les diverses parties du sérogramme (car la coloration des lipides nécessite des quantités de sérum plus importantes) et c'est à notre avis un très gros inconvénient.

D'autre part, ce manque de proportionnalité selon la quantité de protides colorée est un facteur d'erreur assez grave, car - en dehors de toute question de fixation du colorant - un sérum hypoalbuminique aura avec cette méthode une albumine bien moins abaissée qu'elle ne l'est en réalité.

En définitive, si la photométrie directe a un certain intérêt pour juger de la position des diverses fractions du sérogramme les unes par rapport aux autres, par contre elle ne nous paraît pas convenir à l'évaluation quantitative des protides.

L'élution - L'élution du colorant fixé a été employée par TURBA et EHENKEL (128) pour l'azo-carmin en reprenant par la soude décinormale ; par DURRUM (24), CREMER et TISELIUS (18) pour le Bleu de bromophénol en le reprenant

par l'alcool éthylique ou méthylique contenant 5 % de carbonate de soude. Elle a été pratiquée aussi par divers auteurs, notamment SONNET et RODHAIN (111) pour l'amido-Schwartz au moyen de la soude décinormale.

Cette méthode nous paraît la méthode de choix pour l'évaluation quantitative des protides.

Certes, elle a aussi ses inconvénients :

- D'abord, elle oblige à détruire une partie de la bande, mais c'est un inconvénient mineur.

- Plus importante est la question de savoir s'il faut retirer de la valeur d'extinction obtenue pour chaque fraction la valeur du colorant de fond du papier ? Notre expérience nous a montré (Cf. plus loin) que, dans nos conditions expérimentales, avec la quantité de sérum que nous employons, - la coloration de fond du papier étant pratiquement toujours la même -, il était inutile de retirer cette valeur.

- Enfin, elle ne tient pas compte de l'adsorption d'albumine sur la zone de migration. Mais, en définitive, c'est cette adsorption qui doit sans doute expliquer que dans l'électrophorèse sur papier, quelle que soit la méthode d'évaluation quantitative, les résultats obtenus ne concordent pas avec ce que l'on pouvait craindre du fait de la fixation plus grande du colorant par l'albumine.

Par contre, elle a de gros avantages :

- Elle permet des comparaisons valables entre des

quantités de sérum différents et l'emploi des assez fortes quantités nécessaires pour avoir sur la même bande les diverses parties du sérogramme.

- Elle permet du même coup des évaluations plus justes des sérums hypoalbuminiques.

- Enfin, c'est une méthode simple, rapide - en une heure et demie, on peut obtenir facilement les résultats d'une vingtaine de sérums.

Signalons, en terminant cette étude des méthodes proposées pour l'évaluation quantitative des fractions protidiques que, dans l'ensemble, comme nous le verrons, les résultats en sont très proches de ceux de l'électrophorèse classique. Deux discordances ont cependant été signalées :

- MACHEBOEUF, REBEYROTTE et BARBU (72), étudiant un échantillon d'albumine dénaturée par chauffage, ont montré qu'alors que l'électrophorèse classique ne révélait aucune hétérogénéité, la protéine était hétérogène sur le papier qui était donc supérieur. Sans doute, la mobilité dans l'électrophorèse sur papier est-elle fonction non seulement de la charge par unité de masse, mais aussi de la taille et de la forme des protéines ; la dénaturation entraînerait une aggrégation des molécules qui modifie peu la mobilité dans le liquide, mais serait cause du ralentissement et de l'hétérogénéité observés sur le papier.

- Une seule discordance a été signalée dans les protidi-

dogrammes pathologiques : BRISKAS (14), au cours de l'évolution d'une xanthomatose essentielle, a constaté que les mobilités des fractions beta et gamma étaient à peu près normales sur papier, alors qu'elles étaient très perturbées à l'électrophorèse classique.

- Le fractionnement lipidique -

Deux ou trois ans après le début de l'étude du fractionnement protidique par l'électrophorèse sur papier, divers auteurs, en 1952, ont presque simultanément publié l'étude des fractions lipoprotidiques. Elle est basée sur les mêmes principes, seule étant changée la coloration.

Ce sont des colorants employés jusqu'alors en histologie qui ont été utilisés pour la révélation de ces fractions.

Les méthodes de coloration -

Le Soudan III (benzène, azobenzène, azo beta naphthol) introduit en histologie par DADDI en 1896 a été appliqué à la coloration des lipides à peu près simultanément par FASOLI (29) d'une part, KUNKEL et SLATTER (60) d'autre part.

FASOLI utilisait une solution de Soudan III à saturation dans l'éthanol absolu et trempait les bandes, durant 1/2 heure, dans cette solution portée à 40° centigrades, ensuite lavait complètement dans l'alcool éthylique à 50 %, puis dans l'eau distillée.

KUNKEL et SLATTER utilisaient une solution de Soudan III à saturation dans l'éthanol à 50 % et plongeaient les

bandes durant trois heures, dans cette solution portée à 37° ensuite lavaient à l'eau courante.

Nous avons, nous-même, après essai des méthodes précédentes, utilisé au début de nos travaux une solution de Soudan III dans l'éthanol à 50 %, et nous laissons les bandes durant 24 heures à la température du laboratoire, lavage ensuite dans l'éthanol à 50 %, puis dans l'eau. Ceci nous donnait des colorations rouge-orange assez faibles. Mais néanmoins lisibles pour les beta lipo-protéines. Mais il était difficile d'apprécier les alpha, souvent invisibles tant leur coloration était légère. Il fallait, pour obtenir un résultat valable, une grosse quantité de sérum (100 à 200 mm³), et une migration peu importante qui laisse les alpha lipoprotéines rassemblées en une zone étroite, mais il était alors pratiquement impossible de lire sur la moitié de la bande réservée aux protides les diverses fractions globuliniques.

DURRUM, PAUL et SMITH (26) emploient un colorant très voisin du précédent, l'huile rouge O (xylène, azoxylène azo beta naphthol) en solution saturée dans l'éthanol à 60°. Les résultats sont à peu près semblables.

ROSENBERG, la même année, emploie le Soudan IV en solution glycéro-alcoolique, préparé selon la technique de ROSMANN (104) pour le Soudan III avec ensuite lavage à l'eau. Cette méthode donnait des résultats meilleurs que les précédents. La coloration rouge-orange était un peu plus foncée, mais elle laissait néanmoins beaucoup à désirer et, comme

l'ont fait remarquer quelques auteurs et notamment KAY et WHITEHEAD, elle était non seulement peu puissante mais encore s'affaiblissait très rapidement.

Nous avons personnellement modifié cette méthode par un lavage différent à l'alcool contenant de la gomme laque et à condition d'utiliser une solution de Soudan IV relativement fraîche, nous obtenons de très bons résultats parfaitement durables.

Le Noir Soudan, introduit dans la technique histologique par LISON, est sans conteste le meilleur colorant connu des corps gras. C'est SWAHN (76, 119) qui l'a appliqué en 1952 à la coloration des lipoprotéines sériques sur bande électrophorétique. Il donne, avec les modifications apportées par RAYNAUD et ses collaborateurs (95), une excellente coloration des lipoprotéines : bleu-noire ou noire, visible même avec des quantités faibles de sérum de l'ordre de 5 mm³.

Les méthodes d'évaluation quantitative -

Le Rouge Soudan IV ne peut guère être utilisé en photométrie directe sur le photomètre de HANNIG, trop peu sensible pour cette coloration rouge orangée. Les résultats sont parfaitement utilisables par élution dans l'alcool-éther 3/1 et lecture de la densité optique avec un filtre bleu 540.

Le Noir Soudan peut être lu, soit par photométrie directe, soit par élution.

La photométrie directe n'a pas ici les deux inconvénients majeurs qui nous l'ont fait rejeter pour les protides :

- la ligne de base est fixée de façon certaine par le plateau constant situé entre alpha et beta lipoprotéine et n'a rien de fantaisiste comme celle des protéines.

- Il n'y a pas, sauf exception rarissime, de ces extinctions très importantes qui, comme nous l'avons vu, écrasent l'albumine dès qu'on dépasse 5 à 10 mm³ de sérum.

Notre expérience personnelle nous a montré que, par la photométrie directe, on obtenait des courbes beaucoup plus nettes et beaucoup plus importantes en passant les bandes sèches sans les avoir plongées dans le mélange clarificateur.

L'élution donne également de bons résultats. Elle se fait par l'alcool éthylique ou méthylique avec 25 % d'acide acétique. Les extinctions sont lues à 540.

3)- Fractionnement glucidique -

Le troisième volet du tryptique du sérogramme a été réalisé en 1952, par KOIW et GRÖNWALL (56), et en 1954 par PASQUET (86), à Alger, qui ^{ont} apporté la coloration des gluco-protéines. Là encore, c'est aux histo-chimistes qu'ont été empruntés les colorants capables de révéler les glucides sur la bande de papier après électrophorèse. Ceux-

sont, en fait, au nombre de deux, l'un colorant les mucopolysaccharides neutres : c'est le periodic-acid-Schiff ; l'autre colorant les mucopolysaccharides acides : le bleu de Toluidine.

Les méthodes de coloration -

C'est au cours de ces dernières années que le periodic-acid-Schiff (P.A.S.) a été adopté par les histochimistes pour colorer les glucides sur les coupes histologiques (73,47, 63).

L'action de l'acide périodique sur les polysaccharides consiste en une oxydation du groupement 1 - 2 glycol des hexoses, rompant le cycle entre les carbones 1 et 2 et transformant les hydroxyles en aldéhydes. L'intérêt de cette réaction est qu'elle s'effectue parfaitement à la température du laboratoire et qu'elle ne dépasse pas le stade aldéhyde. A ce stade, les composés aldéhydes sont mis facilement en évidence par certains réactifs, le plus utilisé étant la leucofuch sine de SCHIFF avec laquelle ils donnent une coloration rouge violacé. Certes, l'acide périodique est capable de transformer en aldéhydes d'autres groupements, en particulier les acides aminés, mais ces radicaux sont en fait bloqués par les liaisons peptidiques, de telle sorte que les molécules protéiniques qu'ils renferment ne sont plus P.A.S. positives. En définitive, on peut considérer cette réaction au P.A.S. comme une réaction spécifique

dans les conditions réalisées par l'électrophorèse du sérum humain. C'est une excellente réaction colorée, facile, et qui donne les sucres neutres, deux grosses fractions en beta et en alpha 2, une un peu moins importante en alpha 1 et en gamma.

Bien plus difficile et donnant des résultats assez décevants, au moins pour nous, est la coloration au bleu de Toluidine. Cette coloration est une réaction métachromatique répondant à la basophilie des mucopolysaccharides acides dont, nous l'avons vu, on connaît deux représentants dans le sérum humain : l'héparine et l'anti-hyaluronidase non spécifique migrant tous deux avec les albumines. Cette basophilie est due, pour ces deux mucopolysaccharides, à la présence de radicaux esters sulfuriques.

Si, avant de réaliser la coloration au bleu de Toluidine, on fait agir un oxydant fort comme l'acide chromique, ou encore deux oxydants successifs comme l'acide périodique, puis l'eau de brome, on donne aux mucopolysaccharides neutres également une basophilie : l'oxydation dans un premier stade aboutissant au stade aldéhyde, puis dans un deuxième stade les groupements aldéhydes se transformant en groupements carboxyliques basophiles.

Ainsi, on pourrait obtenir une coloration de l'ensemble des fractions glucidiques. La grosse difficulté

cette coloration réside dans l'impossibilité à laquelle nous nous sommes heurtés jusqu'à présent, comme PASQUET, de décolorer de façon correcte le papier en dehors des fractions glucidiques.

Les méthodes d'évaluation quantitative -

Quant à une appréciation quantitative, nos essais d'élution sont jusqu'à présent restés sans succès et il paraît difficile, avec un colorant relativement fragile comme la fuschine, de pouvoir obtenir des éluions suffisamment stables pour donner lieu à un dosage valable. Nous en avons donc été réduit à utiliser la photométrie directe de la bande de papier avec les aléas que cela comporte malheureusement, car ici, comme pour les protides, la ligne de base est imprécise. Nous l'avons fixée personnellement au pied des fractions alpha 1 et gamma.

Ainsi, au terme de cette étude des colorants, nous voyons que, par trois ou quatre réactions colorées simples, on peut, sur une seule bande de papier fixe, avec une quantité de sérum totale de l'ordre de 1/10 de cm³, avoir une visualisation parfaite des fractions protidiques, lipidiques et glucidiques, réalisant ainsi un sérogramme qu'il est facile de faire pour chaque malade, qui donne au premier coup d'oeil un véritable "instantané" de l'état sérique du sujet. Nous pensons fermement que ce sérogramme

sera, au même titre que l'urée, le B.W., la numération, la vitesse de sédimentation que nous demandons déjà presque systématiquement, un élément paraclinique habituel des dossiers de nos malades de demain. Nous ne pensons certes pas qu'il permettra, sauf dans quelques très rares cas particuliers, dès le laboratoire et sans avoir vu le malade, de porter un diagnostic ferme ; mais il sera certainement un des examens paracliniques essentiels qui viendra étayer le diagnostic clinique et qui, dans certains cas, fera lui-même le diagnostic entre deux hypothèses que nous lui proposerons (je pense particulièrement au diagnostic entre maladie d'Osler et F.C.E. que nous avons dernièrement vu se poser dans des conditions particulièrement angoissantes et où le sérogramme a affirmé le rhumatisme et permis de sauver la malade.)

4)- L'extraction du cholestérol dans les fractions sériques -

En dehors du sérogramme, nous avons de plus, dans notre travail expérimental, étudié le dosage du cholestérol dans les fractions lipidoprotidiques du sérum.

Ceci a été fait pour la première fois par KUNKEL et SLATTER (60), en 1952, qui utilisaient des blocs de papier filtre faits de 3 à 9 feuilles de papier WATTMANN, 3 mm., superposées d'environ 37 x 10 cm., placées entre deux plaques de verre siliconnées, dont l'interstice était obstrué

avec de la veseline siliconnée. Une quantité de sérum de l'ordre de 2 à 3 cm³ imbibait un petit rectangle découpé dans le bloc, puis remis en place. Après 24 heures d'électrophorèse, sous 60 mma. et 100 à 500 volts, on développe la bande supérieure pour les protides, la deuxième pour les lipides, le reste du bloc découpé en segments d'1/2 pouce élués par 20 cc. d'alcool-éther 3/1 est utilisé pour le dosage du cholestérol.

Nous avons employé une méthode approchée au début de nos travaux sans grand succès. D'abord, la quantité de sérum était telle que même une migration aussi prolongée ne donnait que des fractions protidiques assez mal séparées, que les alpha lipoprotéines très diffuses étaient la plupart du temps invisibles. Enfin, le sérum imbibant le bloc n'avait pas une répartition homogène entre les diverses feuilles de papier superposées et l'appréciation quantitative du cholestérol dans les fractions était souvent erronée et non reproductible.

Nous avons mis au point dernièrement une méthode d'étude du cholestérol dans les fractions lipido-protidiques qui nous a donné satisfaction. Elle a pu être réalisée grâce à l'appareil de DURRUM, modifié par MACHEBOEUF (loc. cit.) avec cuve large permettant l'emploi de bandes de papier de 18 cm. Nous avons pu ainsi faire des électrophorèses avec

200 mm³ de sérum sur une seule feuille qui nous ont permis d'obtenir avec une microméthode de dosage du cholestérol des résultats remarquablement constants et reproductibles. Le principe en est le suivant : après une électrophorèse de 6 heures, 4 bandes témoin sont découpées, une sur chaque bord, deux au milieu. Une bande médiane et les deux latérales sont révélées en lipides, l'autre bande médiane en protides. Les fragments intermédiaires de papier sont alors découpés selon les fractions lipido-protidiques, élués au méthylal durant 24 heures à deux reprises. Après évaporation du méthylal, réaction de LIBERMANN.

Nous avons lu ces jours-ci qu'une méthode à peu près semblable avait été employée par E. NIKKILA (81) qui aboutit à des résultats un peu différents des nôtres. Nous y reviendrons.

TECHNIQUE -

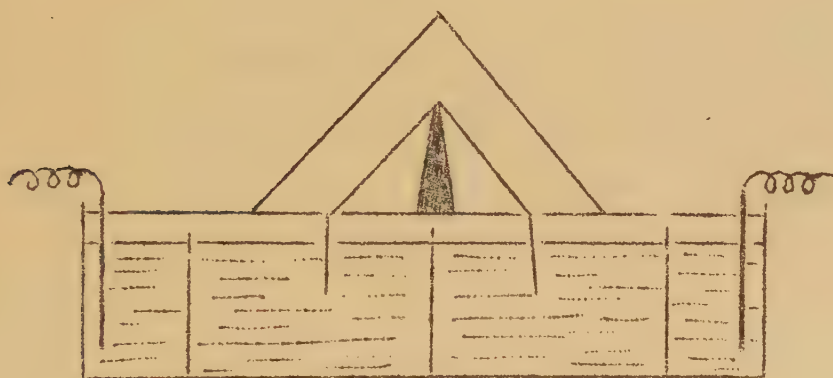
1)- La conduite de l'électrophorèse -

Bien que nous ayons utilisé au début l'appareil d'Elphor, d'électrophorèse à plat, les résultats supérieurs dans le domaine des lipides et surtout la possibilité de faire, sur les bandes de 18 cm. de large, simultanément

le sérogramme témoin et le sérogramme d'un malade, nous ont amené à utiliser uniquement pour ce travail

l'appareil de DURRUM, modifié par MACHEBOEUF et REBEYROTTE, dont nous avons déjà donné ci-dessus les grandes lignes.

La cuve est une cuve rectangulaire de 24 cm. x 44 cm. en chlorure de polyvinyle rigide ; elle est divisée en deux par une cloison médiane surmontée d'un chevalet



haut de 11 cm.. Chaque compartiment a lui-même une cloison à l'union du $\frac{1}{3}$ externe et des $\frac{2}{3}$ internes, percée d'une fente horizontale à sa partie supérieure mettant en communication les deux chambres ainsi créées. Dans la chambre externe arrive le courant par l'intermédiaire d'un fil de platine qui est placé à sa partie inférieure.

Cette cuve est fermée par un couvercle qui reste à un centimètre au-dessus de son bord, facilitant ainsi l'évaporation. Ce couvercle porte deux fentes transversales par où passe le papier pour gagner les bacs contenant la solution tampon.

Le papier repose par son milieu sur le chevalet et se trouve là environ à 14 cm. au-dessus du niveau du tampon dans les deux bacs ; il retombe de part et d'autre selon une pente assez raide (50°) pour s'engager dans les fentes du couvercle à travers lesquelles il va plonger dans le tampon.

L'ensemble du chevalet et du papier est recouvert par un couvercle en forme de dièdre creux, en V renversé, formé à ses deux extrémités, s'appliquant en bas sur la plaque qui ferme la cuve, et dont les parois obliques sont en amiante.

Le tampon utilisé est un tampon véronal de pH 8,6 dont la formule est la suivante :

- Véronal sodique 5,5 diéthyl barbiturate de sodium : 10,3 g
- Véronal acide acide 5,5 diéthyl barbiturique : 1,84 g
- Eau distillée q.s.p. 100 cc

Le niveau doit atteindre environ 1 cm. au-dessus de la fente qui fait communiquer les deux chambres de chaque compartiment. On vérifie, en utilisant au besoin un siphon, que le niveau soit le même dans les deux compartiments. Le volume total du tampon est de 5,500 litres. Il sera bon de le changer fréquemment (tout au plus 8 ou 10 électrolyses). Un courant d'environ 10-12 milli-ampères par cuve, ce qui correspond à 0,5-0,6 milli-ampères par centimètre de largeur du papier, et une tension de 300 volts (HT) sont

appliqués aux bornes de la cuve.

Le papier utilisé est un papier filtre assez homogène mais non lavé des papeteries d'Arches (Arches 301), en feuilles de 44 x 18 cm. On peut également, notamment pour les éluions, utiliser un papier lavé similaire (Arches 302).

Il faut encore signaler qu'au cours de chaque électrolyse se dépose un manchon de véronal blanchâtre autour du fil de platine de l'anode qui pourrait gêner le passage du courant. Il faudra s'en débarrasser soigneusement à chaque nouvelle expérience.

Il faut enfin éviter, au cours des opérations, de souiller le papier, même de le toucher avec les doigts, toute empreinte de doigt humide ou gras occasionnant des irrégularités de l'électrophorèse et des taches lors de la coloration.

Le sérum sera déposé sur le papier selon une ligne transversale située à 15 ou 20mm. en arrière du milieu de la bande du côté de la cathode. Cette situation est un peu en avant de la ligne que nous avons vue plus haut comme étant la ligne d'immobilité hydrostatique résultant de la combinaison du flux hydrique dû à l'évaporation et de l'électroendosmose.

Nous avons l'habitude d'effectuer l'électrophorèse d'une quantité suffisante de sérum pour avoir sur la même bande de papier le sérogramme complet d'un sujet normal témoin et celui du malade. Pour cela,

nous employons 90 millimètres cubes pour chacun des deux sérums que nous établissons selon une ligne de 7 cm. de long.

Mode Opératoire -

La cuve à électrophorèse étant prête (tampon égalisé dans les deux cuves, fils de platine nettoyés), on prend une feuille de papier filtre de 44 x 18 cm. et l'on trace transversalement à 15 mm en arrière du milieu, vers la cathode, deux traits de crayon fin longs de 7 centimètres séparés entre eux de 2 cm. et éloignés des bords de 1 cm.

Puis on place la feuille de papier filtre en son milieu sur le chevalet de la cuve à électrophorèse, la faisant passer des deux côtés dans les fentes transversales du couvercle pour la faire plonger dans les bacs contenant la solution tampon.

On imbibe le papier en faisant couler du tampon à sa surface avec une pipette et après l'avoir recouvert de son chapeau, on fait passer le courant durant 15 minutes pour égaliser le flux hydrostatique dans le papier.

On dépose alors le sérum sur le papier au moyen d'une pipette capillaire, le plus rapidement possible et sans arrêter le courant. Nous utilisons habituellement une pipette capillaire de 15 mm³ et laissons écouler le sérum par capillarité sur le papier. Nous mettons, en règle, pour

le sérogramme 90 mm³ ; nous sommes donc obligé de repasser 6 fois notre pipette sur les 2 traits tracés précédemment. Il ne faut pas trop appuyer pour éviter de déchirer le papier. Avec un peu d'habitude, ceci se fait facilement et rapidement.

On recouvre alors le papier et on fait l'électrophorèse durant 5 heures. A la fin de ce temps, on coupe le coulant et on retire la bande de papier soigneusement en la prenant par ses extrémités. On la fait sécher, soit à l'air, soit à l'étuve entre 70 et 90°.

Dès ce moment, on voit sur la feuille de papier une légère teinte jaunâtre et un aspect gaufré du papier en bande transversale à 6, 7 cm. de l'origine, qui répond à l'albumine et parfois une autre bande un peu gaufrée, peu ou pas teintée, plus près de l'origine, qui répond aux beta globulines, ce qui donne une première impression de la qualité de la migration.

Dès lors, l'électrophorèse étant terminée, il faut passer au second stade, celui de la révélation.

Révélation du sérogramme -

Pour révéler le sérogramme, nous découpons longitudinalement les deux moitiés de la feuille de papier qui répondent respectivement au témoin et au malade, chacune en 4 bandes d'environ 2cm. de large (le sérum a en effet un peu diffusé transversalement le long de la ligne d'origine et l'a

débordée en général de quelques mm de chaque côté). Une de ces bandes servira à la révélation des protides, la seconde à la révélation des lipides par le Noir Soudan, la troisième à la révélation des glucides par le P.A.S., la quatrième, selon les cas, soit au bleu de Toluidine, soit à une autre révélation des lipides par le Soudan IV.

A- Révélation des protides -

a)- Les solutions -

1)- Colorant : Amidoschwarz à saturation dans l'alcool méthylique avec acide acétique.

En pratique, on prépare 500 cc. de la solution en ajoutant au mélange de : 450 cc d'alcool méthylique pur,
50 cc d'acide acétique glacial,
5 grs de noir d'aniline ou Amido-Schwarz.

Cette solution se conserve parfaitement durant plusieurs semaines et peut être utilisée pour 150 à 200 bandes.

2- Bains de rinçage :

Méthanol - acide acétique 9 : 1

Au moins 5 bains de rinçage de 3/4 de litre à 1 litre chacun, en jetant le premier bain à chaque fois après coloration d'une dizaine de bandes, et en faisant monter ainsi d'un cran chaque bain, pour avoir du liquide neuf pour le dernier bain à chaque nouvelle série de coloration.

b)- Mode opératoire -

Plonger les bandes dans la solution 1 durant une minute en agitant, puis passer dans les bains de rinçage successifs, en agitant de temps en temps, 5 minutes dans le premier, 5 à 10 minutes dans chacun des suivants. On peut laisser la bande plus longtemps dans le dernier bain : elle n'en serait que mieux décolorée s'il en était encore besoin ; ensuite laisser sécher à l'air. Les fractions colorées sont bleu noir très foncées, le papier en dehors du diagramme électrophorétique doit être bleu très pâle. Ceci est obtenu en 1 heure environ.

- Révélation des lipides -

La révélation des lipides peut se faire, soit par la noir Soudan ou noir Cérol B, soit par le rouge Soudan IV.

a)- Noir Soudan -

Nous avons utilisé la méthode de RAYNAUD et coll. qui nous a paru de beaucoup la meilleure.

- Les solutions :

1- Colorant : Noir Cérol B à saturation dans l'éthanol à 50°, filtrer, puis diluer à parties égales avec éthanol à 50°. Ce bain doit être, pour avoir de meilleurs résultats, utilisé frais et renouvelé toutes les semaines et même plus souvent.

2- Bains de rinçage : éthanol à 50° dans lequel on a dissous à chaud de la gomme laque jusqu'à teinte légèrement jaune ; 2 bains de rinçage d'un demi-litre chacun.

- Mode opératoire :

1- Plonger les bandes durant une heure dans le réactif 2.
2- Puis dix minutes chaque fois dans deux bains successifs du réactif 2. Ceci permet une décoloration presque totale du papier en dehors des zones lipido-protidiques. Le temps intermédiaire de RAYNAUD et coll. (95) consistant en un séchage à l'étuve à 37° entre la coloration et le rinçage ne nous a pas paru apporter une amélioration à cette méthode, qui est excellente

b)- Rouge Soudan IV -

Nous avons adapté personnellement à la coloration au rouge Soudan IV un système de rinçage semblable au précédent qui nous a donné d'excellents résultats et une stabilisation parfaite des colorations obtenues à condition de suivre strictement les données que nous allons préciser.

- Les solutions :

1- Colorant : Soudan IV préparé selon la technique de ROSSMAN (104) pour le Soudan III, à saturation dans la solution suivante :

Glycérine	250
Alcool à 95°	200
H ₂ O	50

Agiter, filtrer après quelques heures. Ce colorant, bien que

plus stable que le précédent, doit également, pour donner constamment de très bons résultats, être préparé fraîchement toutes les semaines.

2- Bains de rinçage : comme celui employé par RAYNAUD (loc. cit.) pour le noir Cérol B, éthanol à 50°, où l'on a dissous à chaud de la gomme laque jusqu'à teinte jaune.

- Mode opératoire :

Plonger les bandes dans la solution 1 et les y laisser durant 24 heures. Sortir du colorant et rincer durant un quart d'heure chaque fois dans deux bains successifs de la solution 2. Lorsque l'on porte les bandes du colorant dans le premier bain de rinçage, on voit, durant les premières minutes, la coloration s'aviver et prendre un beau ton rouge que la décoloration parfaite du papier par les deux bains de rinçage successifs mettra encore mieux en valeur. Le premier bain, qui se charge rapidement en colorant, devra être renouvelé toutes les deux ou trois séries de coloration.

Révélation des glucides -

Nous avons révélé les glucides au periodic acid SCHIFF selon la technique dérivée de celle de PASQUET (86), à laquelle nous avons apporté quelques modifications. Cette coloration est facile à condition, là encore, d'observer rigoureusement quelques points que nous allons préciser.

a)- Les solutions -

1- Acide périodique :

périodate de Na	5 g.
acide nitrique	5 cc.
eau distillée	500 cc.

Cette solution pourra être ^{utilisée} pendant plusieurs semaines.

2- Leucofuchsine de SCHIFF : 1,50 de fuchsine basique pulvérisée dissoute dans 200 cc. d'eau distillée, y ajouter 1,50 de métabisulfite de K, puis 30 cc. d'HCl normal ; filtrer.

On obtient un colorant rouge violacé qui va virer progressivement et devenir en quelques heures jaune pâle.

Ce colorant, qui ne doit être utilisé qu'après 5 ou 6 heures, lorsqu'il a pris une teinte vraiment claire, doit être maintenu strictement à l'abri de l'air. Moyennant, cette précaution, si l'on fait les colorations dans des bacs couverts, on pourra utiliser la leucofuchsine à 2 ou 3 reprises, mais jamais plus. Si l'on a le moindre doute, en particulier si le dégagement de gaz sulfureux n'est pas très fort, il vaut mieux refaire son colorant que risquer une mauvaise coloration.

3- Bains de rinçage : A préparer lors de chaque séance de coloration :

métabisulfite	6 g.
eau distillée	800 cc.
HCl N	120 cc.

b)- Mode opératoire -

Tremper les bandes 1/4 d'heure dans l'acide périodique 1
Laver soigneusement à l'eau, temps capital.

Tremper ensuite dans la leucofuchsine (solution 2)
durant 5 minutes. On voit rapidement apparaître les bandes colorées lilas. Si la fuchsine est suffisamment fraîche, 5 minutes suffisent pour avoir une très belle coloration des gluco-protéines, le reste du papier restant très faiblement coloré. Dans le cas contraire, il faut laisser les bandes plus longtemps et les enlever lorsqu'on aura obtenu la coloration désirée, en surveillant soigneusement pour éviter que le fond du papier ne se colore trop, ce qui est ensuite irréparable.

Dès la coloration réalisée, tremper 5 minutes dans un premier bain de rinçage (solution 3), puis 1/4 d'heure chaque fois dans 3 bains successifs de même solution. Ces bains de rinçage ne sont pas conservés après utilisation ; il est indispensable de les préparer extemporanément chaque fois.

Après le dernier bain de rinçage, tremper les bandes durant 3 à 5 minutes dans l'alcool méthylique ou éthylique ; sécher au mieux en les suspendant par une extrémité, le contact d'une feuille de papier buvard pouvant donner des taches malencontreuses.

Quant à la coloration par le bleu de Toluidine des gluco-protéines acides, nous n'avons pas abouti jusqu'à présent à un résultat intéressant.

3)- Le dosage du cholestérol dans les fractions sériques -

Nous avons étudié, en dehors du sérogramme, le dosage du cholestérol dans les fractions lipido-protidiques du sérum.

Pour cela, nous faisons une électrophorèse sur feuille de 18 x 44 cm. comme pour le sérogramme. Nous déposons 200 mm³ de sérum sur une ligne transversale de 15 cm en arrière du milieu de la feuille, comme précédemment.

La durée de l'électrophorèse sera ici de 6 heures. Après séchage, nous découpons une bande sur chaque bord de la feuille et deux étroites bandes médianes. Les deux bandes latérales et une des bandes médianes sont développées au Noir Soudan, l'autre bande médiane à l'Amido-Schwarz. Nous découpons les parties de la feuille non colorées en bandes transversales, selon les fractions protidiques en 4 bandes : l'une répond aux alpha lipo-protéines et englobe alpha 1 globuline et albumine, la deuxième à la région comprise entre alpha et beta lipo-protéines, répondant aux alpha 2 globulines, la troisième aux beta lipo-protéines, la quatrième aux gamma globulines.

Ces bandes sont éluées durant 24 heures dans 10 c

de méthylal.

Celui-ci est versé ensuite dans des capsules où on le laisse évaporer. On fait une seconde extraction avec 10 cc. de méthylal durant à nouveau 24 heures et au bout de ce temps on verse ce méthylal dans les mêmes capsules.

Après évaporation, le cholestérol est repris par du chloroforme (5 cc.) et les tubes maintenus au bain-marie à 20°.

On ajoute 2 cc. de la solution : anhydride acétique 20 cc., acide sulfurique 1 cc., préparé extemporanément à 0° et ramenée ensuite à 20°. On lit, après 20 minutes, à l'électrophotomètre avec un filtre 540.

DEUXIÈME PARTIE

LE SEROGRAMME NORMAL

.....

.....



I/- ASPECT D'ENSEMBLE -

Le sérogramme, tel qu'il est réalisé par la technique que nous venons d'étudier, comporte 4 bandes colorées que nous replaçons l'une à côté de l'autre pour reconstituer la feuille initiale avec le quadruple fractionnement du sérum, à la fois protidique, lipidique avec les deux bandes au noir Cérol B et au rouge Soudan IV, glucidique. Cet aspect permet d'emblée et avec une certitude absolue de se rendre compte des correspondances entre les fractions des différentes sections du sérogramme et donne d'un seul coup d'oeil l'état sérique global du sujet. Nous joignons systématiquement les sérogrammes d'un témoin et du sujet à étudier : leurs électrophorèses sont faites sur la même feuille, sont colorées simultanément, ceci afin de donner le plus de garantie possible sur l'exactitude des anomalies constatées chez le malade. Ceci est loin d'être inutile, car malgré un travail soigneux, malgré les colorations d'une technique rigoureuse, il arrive que de temps en temps, sans que rien ne puisse le laisser prévoir, il y ait un résultat aberrant, qui sans la présence d'un témoin pourrait nous induire en erreur.

Ceci est heureusement assez rare et la présence constante d'un témoin dont la migration et la coloration ont été communes permet de reconnaître immédiatement le cas aberrant et de refaire l'électrophorèse. Dans ces conditions, les résultats obtenus sont, dans l'ensemble, parfaitement reproductibles.

Sur la photo ci-dessus, on constate, de haut en bas

- Le glucidogramme, avec ses trois fractions nettes de gauche à droite, beta, la plus foncée qui a une coloration violette ; alpha 2, de coloration rouge lilas ; alpha 1 un peu moins intense ; quant à gamma, elle est généralement très peu colorée et donne, chez le sujet normal, un aspect un peu semblable à celui du "trailing" du lipidogramme.

- Le protidogramme, avec ses cinq fractions nettement visibles : albumine, alpha 1, alpha 2, beta particulièrement foncé et gamma.

- Les lipidogrammes avec leurs deux fractions beta et alpha lipoprotéines bien visibles avec le Soudan IV où elles ont une coloration rouge-orange bien plus marquée en beta qu'en alpha, mieux encore avec le noir cérol beta. Depuis l'origine jusqu'à la fraction beta, une zone faiblement colorée répondant aux gamma globulines sur laquelle nous reviendrons.

Notons encore un fait intéressant avant de passer à l'étude analytique des diverses sections : on est frappé sur ce tableau d'ensemble par le trait vertical des beta qui se poursuit d'un bord à l'autre du sérogramme. Il rend bien compte de ce que nous écrivions plus haut avec MACHEBOEUF (69) : les beta globulines contiennent au moins 30 % de leur poids en lipides et en glucides.

N.B.- Une des bandes de fractionnement lipidique que nous avons fait jusqu'à présent en double pour juger si les colorations au noir et rouge Soudan étaient semblables, nous servira ultérieurement, soit pour la coloration des glucoprotéines, soit pour celle des phospho-lipides, que nous étudions actuellement.



II/ - LE PROTIDOGRAMME -

Aspect -

La bande colorée à l'Amido-Schwarz présente, nous venons de le voir, 5 fractions. La plus avancée vers l'anode est l'albumine, grosse bande très foncée, large d'environ 2 cm., située à 6 à 8 cm de l'origine. Ses bords ont en général un aspect frangé, dentelé. Tout contre elle, du côté de la cathode, une zone légèrement teintée, de 6 à 8 mm. de large, est celle de la globuline alpha 1.

Un peu moins rapide, nettement séparée de 4 à 5 mm la fraction alpha 2, large d'environ 1 cm., à 35 à 40 mm? de l'origine, est légèrement plus teintée que la précédente.

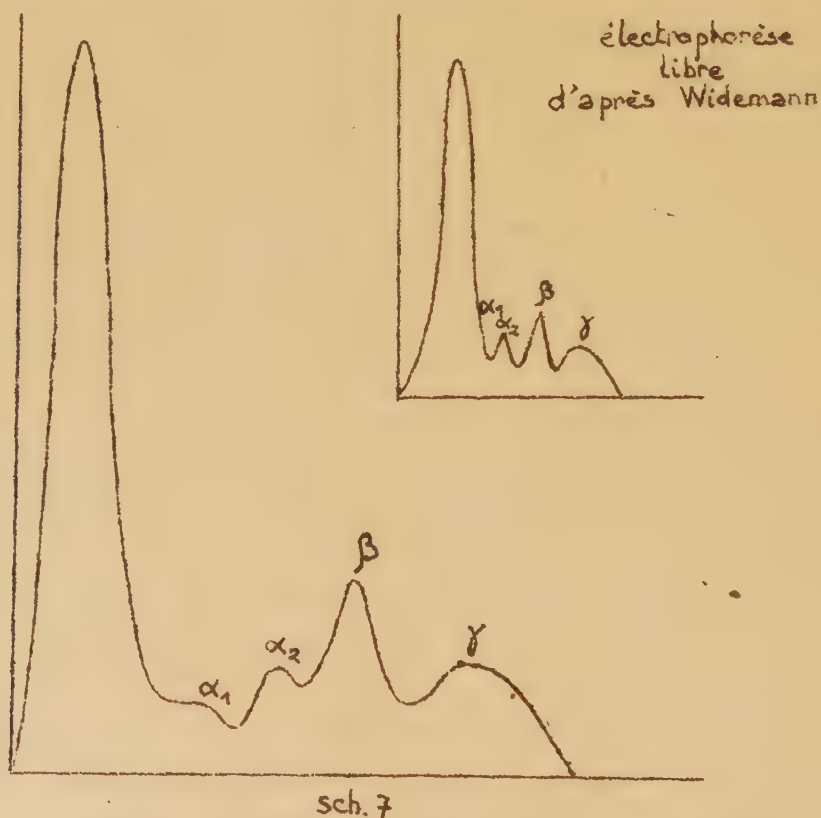
Distante de 2-3 mm. vers la cathode, la fraction beta est étroite (7-8 mm.), la plus foncée des globuline. Elle est distante de 20 à 30 mm. de l'origine.

Nettement séparée, d'environ 1 cm., la bande des gamma globulines, particulièrement large (20 à 25 mm) est moyennement colorée. A pH 8,6, les gamma globulines migrent légèrement vers l'anode. Cette migration est pratiquement annulée par l'électroendosmose, et les gamma globulines restent à cheval sur l'origine. Quelquefois même, elles

reculent de quelques millimètres.

Courbe -

La photométrie directe de la bande donne une courbe qui représente bien qualitativement et dans une certaine mesure quantitativement ces différentes fractions.



C'est la très proche parenté de cette courbe avec celle de l'électrophorèse classique qui a permis de donner aux fractions obtenues par l'électrophorèse sur papier les mêmes dénominations que celles qui avaient été attribuées par TISELIUS aux fractions dans le tube en U.

Etude quantitative -

Pour l'interprétation quantitative des fractions protidiques, nous avons préféré l'élution des bandes avec la soude décinormale pour les raisons déjà indiquées. (1)

Ceci nous donne pour 30 témoins :

	<u>Albumine %</u>	<u>Alpha 1 %</u>	<u>Alpha 2 %</u>	<u>Beta %</u>	<u>Gamma %</u>
1	59,2	5,2	6,6	13,6	15,4
2	52,6	4,9	9,1	15,1	18,3
3	58,4	4,6	7,7	12,4	16,9
4	56,7	5,2	8,5	14,4	15,2
5	63,5	4,5	8,2	11,1	12,7
6	52,5	4,7	9,5	14,8	18,5
7	64,1	3,5	5,2	12,8	14,4
8	57	6,5	7,2	13,5	15,8
9	55	6	9	13,5	16,5
10	54,4	5,3	9	13,4	17,8
11	60,5	5,3	7,4	12,9	13,9
12	53,8	5,8	8,4	14	18
13	55	5,5	8,5	13,5	17,5
14	58,7	3,9	7,8	13,6	16
15	51,3	6,3	9,7	14,3	18,4
16	55,7	5	8,5	14	16,8
17	57	5,7	7,4	13,5	16,4
18	53,5	6,3	9	13,2	18
19	56,3	5,6	8,6	14	15,5
20	53,8	5,8	8,6	13	18,8
21	54,7	6,3	9	13	17
22	57,3	4,6	9,7	13	15,4
23	53,1	6,3	9	13,2	18,4
24	59	4,4	9	13,4	14,5
25	55	5	8	13	19
26	57,7	5,9	8,7	12,2	15,5
27	54	6,1	8,9	12,9	17,7
28	54,6	6,3	9	12,7	17,4
29	53,5	6,5	9,3	14	16,7
30	60,5	5,5	8,2	12,1	14,7
limites	64,1-51,3	6,5-3,5	9,7-5,2	15,1-11,1	19-12,7
moyenne	56,3	5,4	8,4	13,3	16,6
standard déviation	$\pm 3,1$	$\pm 0,75$	$\pm 0,95$	$\pm 0,8$	$\pm 1,6$
coef. variation	σ/M 5,5 %	13 %	8,9 %	6 %	9,5 %

(1)- filtre 597 - électrophotométrie à densité optique

Ainsi, les taux moyens des diverses fractions chez le sujet normal dans les conditions données sont respectivement de 56,3 pour l'albumine, 5,4 pour l'alpha 1 globuline, 8,4 pour l'alpha 2 globuline, 13,3 pour les beta globulines, 16,6 pour les gamma globulines. Ces taux obtenus sans aucune correction sont proches de ceux de divers auteurs comme le montre le tableau suivant :

	<u>Nbre de cas</u>	Albumine	$\alpha 1$	$\alpha 2$	β	γ	
PLUCKTHUN (90)	15	59,1 $\pm 2,45$	4,2 $\pm 0,67$	8,1 $\pm 1,14$	10,6 $\pm 1,85$	18,2 $\pm 2,54$	Azocarn élution
KÖRVER (58)	25	57,8 ± 1	4,5 $\pm 0,3$	8,2 $\pm 0,7$	9,6 $\pm 0,7$	19,9 $\pm 1,05$	Azocarn élution
SCHNEIDER (106)	6	59,1		8,8	13,8	18,3	BPB élution
GRASSMANN (36)	25	61,3 $\pm 1,2$	4,1 $\pm 0,6$	8,1 $\pm 0,7$	11 $\pm 0,7$	15,5 $\pm 1,2$	Photo. directe AMIDOS
SCINET & RODHAIN (111)	13	61,7	4,9	8,1	10,1	15,2	photo. directe AMIDOS
		61,7 $\pm 1,98$	4,3 $\pm 1,09$	7,5 $\pm 1,2$	10,2 $\pm 0,7$	16,3 $\pm 2,41$	élution AMIDOS
AUTEUR	30	56,3 $\pm 3,1$	5,4 $\pm 0,75$	8,4 $\pm 0,95$	13,3 $\pm 0,8$	16,6 $\pm 1,6$	élution AMIDOS

Lorsqu'on compare avec les résultats obtenus par l'électrophorèse libre :

59 % 5,6 % 9,2 13,5 12,6

on peut constater même que si notre taux d'albumine est légèrement inférieur, le taux des globulines est, dans l'ensemble très correct. Seul, le taux des gamma globulines, comme il en est d'ailleurs de même chez tous les auteurs, est supérieur à celui qu'on trouve par l'électrophorèse libre. Ceci nous.

paraît dû, à la grande surface de la fraction globulinique sur le papier qui rend importante, dans la valeur d'extinction de cette fraction, la part de la coloration de fond fixée directement sur le papier. Pour le vérifier, nous avons découpé sur la bande, en dehors des fractions sériques, un témoin large de 2 cm. que nous avons élué en même temps que les fractions et nous avons retiré de la valeur obtenue pour chacune d'elles la valeur correspondant à la coloration de fond du papier (calculée en multipliant la valeur du témoin par la largeur de chacune des fractions). Sur 10 sérums témoins, nous avons obtenu les valeurs suivantes :
Alb.:61,2 Alpha 1:3,8 Alpha 2:7 Beta:15 Gamma: 13

En fait, dans nos conditions expérimentales, nous avons pu constater que la coloration de fond du papier était à peu de choses près toujours la même et qu'étant donné la quantité relativement élevée de sérum que nous employons, elle a dans l'ensemble peu d'importance.

Le travail et le temps supplémentaires que nécessiterait la mesure de la largeur de chaque fraction nous paraissent donc inutiles et, en pratique courante, les résultats obtenus sans aucune correction nous paraissent suffisamment stables et parfaitement constants pour servir de base à l'étude des sérums pathologiques.

Reproductibilité -

Encore fallait-il s'assurer si ces résultats étaient reproductibles. Nous avons, pour cela, fait 10 électrophorèses différentes avec le même sérum. Les résultats sont consignés dans le tableau suivant :

	<u>Albumine</u>	<u>Alpha 1</u>	<u>Alpha 2</u>	<u>Beta</u>	<u>Gamma</u>
1	55	4,5	7,7	14	18,8
2	56	5,5	7,5	12,5	18,5
3	58	6	7,5	13	15,5
4	54,9	6	8,5	13,5	17,1
5	57	6,5	8	13	15,5
6	57	4,5	8	13	17,5
7	56,1	5,4	7,7	13,9	16,9
8	56	6,1	7,2	12,5	18,2
9	57,2	5,7	8,1	13,6	15,4
10	58,2	5,5	8	12	16,3
M	56,5	5,5	8,4	13,1	17
σ	$\pm 1,3$	$\pm 0,66$	$\pm 0,7$	$\pm 0,66$	$\pm 1,3$

On peut constater que, dans l'ensemble, un même sérum donne des résultats très proches dans les 10 expériences.

Ceci est en accord avec les résultats de :

KÖRVER (58)	57,8	4,5	8,2	9,6	19,9	10 fois
σ	± 1	$\pm 0,3$	$\pm 0,7$	$\pm 0,75$	$\pm 1,05$	sérum non azocarm
PLUCKTHUN (90)	59,9	4,1	8,9	10,1	17	12 fois
	$\pm 1,2$	$\pm 0,48$	$\pm 0,62$	$\pm 0,84$	$\pm 1,45$	sérum non azocarm
SONNET & RODHAIN (111)	48,9	6,06	11,49	10,91	22,65	10 fois
	$\pm 1,53$	$\pm 0,44$	$\pm 0,54$	$\pm 1,13$	$\pm 1,36$	mélange sérum Anido-Schwar

Effet du vieillissement et du chauffage -

Enfin, nous avons voulu étudier l'effet du vieillissement du sérum en glacière. En accord avec les résultats de OTT, HABER et KORVER (85), nous n'avons pas trouvé de modification importante dans les protides d'un sérum conservé deux mois en glacière.

Quant au chauffage du sérum, il détermine avant tout une augmentation très légère, globale, de la migration des fractions protidiques.

Contrairement à BENHAMOU et POLONOVSKI (6), qui signalent des transformations importantes par chauffage à 37° du sérum pendant 20 minutes, consistant en une diminution de l'albumine et une augmentation des gamma globulines, nous n'avons pas trouvé après conservation durant 24 heures à l'étuve à 37° de modifications importantes quantitatives entre albumine et globulines.

La seule modification appréciable est une petite diminution des beta globulines et une légère augmentation des alpha 2. Ceci nous paraît en rapport avec la transposition des lipo-protéines bêta dont le sommet, nous le verrons, passe sous l'influence du chauffage de beta à alpha 2.

En conclusion, l'étude quantitative par élution de l'amido-Schwarz colorant les fractions protidiques nous a donné des taux d'albumine et de globulines très proches de ceux de l'électrophorèse classique. Elle nous a

montré qu'il y avait chez 30 sujets normaux des variations très peu importantes, dans des limites très serrées, à tel point que tout sérum dont une fraction dépassait ces limites ne peut être considéré comme normal. Enfin, le vieillissement en glacière durant deux mois n'altère pratiquement pas les fractions protidiques.

III/- LE LIPIDOGRAMME -

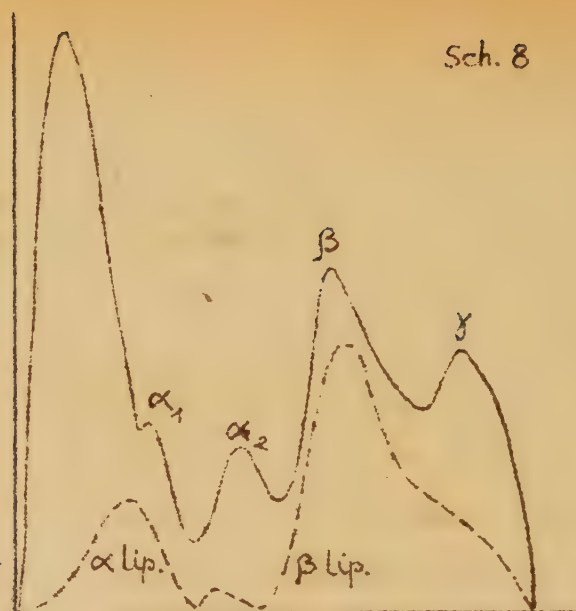
Aspect -

Les bandes du lipido-gramme montrent deux zones colorées. L'une, en regard de l'espace compris entre alpha I globuline et albumine, répond aux alpha I lipoprotéines. L'autre comporte essentiellement une bande étroite de 7 à 10 mm. de large fortement colorée répondant directement aux beta globulines. Elle est prolongée vers la cathode jusqu'à la ligne de départ du sérum par une sorte de trainée moins fortement colorée sur laquelle nous allons revenir.

Courbe -

La photométrie directe de la bande de papier donne une courbe tout à fait caractéristique.

On y retrouve les deux zones dont nous venons de parler : les alpha lipoprotéines dont le pic répond à la jonction de la globuline alpha I et de l'albumine ; les béta lipoprotéines dont le pic est situé régulièrement 1 ou 2 millimètres en arrière du pic des globulines béta. En arrière de cette onde, la courbe redescend lentement jusqu'à l'origine limitant là une zone répondant aux globulines gamma.



Enfin, entre b $\acute$ ta et alpha I, on note une petite ond $\acute$ r $\acute$ pondant aux alpha 2 globulines, mais dont le maximum est un peu en avant de celui de la fraction protidique correspondante.

L'existence ou l'absence de lipoprot $\acute$ eines li $\acute$ es aux globulines gamma a $\acute$ t $\acute$ e tr $\acute$ s discut $\acute$ ee. Nous avons vu plus haut que BLIX, TISELIUS et SVENSSON (12) avaient trouv $\acute$ des lipides dans toutes les fractions de l' $\acute$ lectrophor $\acute$ se libre. Cependant, les m $\acute$ thodes chimiques qui permettent d'isoler des gamma globulines assez pures n'y montrent aucune trace de lipides.

ROSENBERG (103) suppose que les lipides qui restent pr $\acute$ s de l'origine sont constitu $\acute$ es de lipides non li $\acute$ s avec des prot $\acute$ eines et qui ne migrent pas dans le champ $\acute$ lectrique.

MALMROS et SWAHN (76) pensent que cette fraction lipidique est faite de chylomicrons. Cependant, dans l' $\acute$ lec-

libre on a observé que les chylomicrons migraient soit avec les alpha, soit avec les beta globulines.

Une interaction des beta lipoprotéines avec les gamma globulines ne peut guère être prise en considération dans les conditions expérimentales de pH et de force ionique.

En fait, l'hypothèse la plus valable est qu'il s'agit d'une adsorption des beta lipoprotéines dans le papier depuis l'origine jusqu'à l'onde beta. KUNKEL et SLATTER (61) appellent cette zone d'adsorption le "trailing". Ils étayent cette hypothèse de 3 arguments d'importance :

- D'abord, le fait déjà signalé que les fractionnements chimiques les moins dégradants ne montrent pas de lipides en gamma ;

- Deuxièmement, l'électrophorèse pratiquée avec le même tampon, la même force ionique sur milieu solide (fécula de pomme de terre) ne montre aucune fraction lipidique en gamma ;

- Enfin, le rapport cholestérol/phospholipides qu'ils ont étudié dans les différentes fractions est le même en beta et sur le trailing.

Nous ajouterons à cela deux arguments tirés de notre expérience personnelle :

- D'abord, lorsque, pour une raison quelconque, les gamma globulines reculent depuis l'origine (notamment du fait de l'électroendosmose lorsque le trait de sérum est placé en avant de la ligne d'immobilité hydrostatique, jamais la trainée des beta lipoprotéines ne va en arrière de l'origine.

- D'autre part, comme nous le verrons plus loin, dans nos expériences de reproductibilité, l'électrophorèse répétée dix fois et sur trois cuves différentes d'une même sérum donne une reproductibilité correcte des proportions de alpha lipoprotéines et de l'ensemble beta-gamma ; mais, selon la distance de migration des beta depuis l'origine, la proportion du colorant fixé sur l'onde beta elle-même et sur le trailing est très variable, alors qu'elle devrait être la même à peu de choses près dans toutes les expériences s'il s'agissait de deux fractions différentes.

Il s'agit donc certainement d'une adsorption des beta lipoprotéines. Il n'en reste pas moins que cette adsorption peut être sélective. KUNKEL et SLATTER (loc. cit.) ont montré que le trailing contenait une haute quantité de graisses neutres, plus importante qu'il n'y en a en beta, et ont émis l'hypothèse d'une adsorption

sélective de larges molécules lipidoprotidiques qui correspondraient sans doute au composé 20 de l'ultra-centrifugation décrit par GOFMAN, LINDGREN et ELLIOTT (33 b).

Quant à la petite onde située en regard de alpha 2, elle est invisible à l'œil nu sur la bande, mais elle est parfaitement constante sur la courbe photométrique. Faut-il admettre qu'il existe vraiment une petite fraction lipidique en alpha 2 ? C'est difficile à affirmer. NIKKILA (81) a tendance à l'admettre et signale que l'existence d'une telle fraction aurait été soupçonnée à l'ultra-centrifugation par GREEN et LEWIS (40). La fréquence avec laquelle nous trouvons une petite proportion de cholestérol en alpha 2 répond bien pour nous à l'existence de cette petite onde sur le diagramme lipidique. Peut-être s'agit-il seulement d'une adsorption des alpha lipoprotéines. Mais il est important de constater la différence de forme entre cette onde en alpha 2 qui est bien nette et bien limitée, a le plus souvent une forme en dôme, répondant directement à une courbe de GAUSS, et celle du "trailing" des beta qui descend progressivement sans jamais donner d'ondement séparée. PASQUET (86) retrouve également cette onde et lui donne le nom de alpha lente. Nous considérons pour notre part, avec H. MALMROS et B. SWAHN, qu'il s'agit d'une onde alpha 2.

Il nous faut signaler enfin, avant d'aborder l'étude quantitative des lipoprotéines, que PASQUET (loc.cit.) décrit un grand nombre d'ondes lipidiques qu'il dénomme A, répondant à la partie postérieure des albumines, alpha rapide répondant à l'intervalle albumine-alpha 1, alpha lente qui répond à la fraction alpha 2 que nous venons de signaler ; beta rapide : c'est l'onde beta banale : beta lente et beta très lente, toutes les deux sur le "trailing". Cette classification complexe nous paraît sans grand intérêt.

Etude quantitative -

Plus intéressante est sans doute l'étude quantitative des fractions lipidiques. Nous avons utilisé ici surtout la photométrie directe de la bande de papier. L'élution donne des résultats comparables, bien que dans l'ensemble un peu plus faibles. (sur 10 cas d'élution, la moyenne était pour alpha : 27,4 %).

	<u>Alpha %</u>	<u>Beta %</u>	<u>Trailing %</u>
I	21,6	53,4	25
2	29,9	56,6	13,5
3	37,5	51,2	11,3
4	42,3	44,4	13,3
5	37,4	47,9	14,7
6	31,5	55,6	12,9
7	35,3	46,5	18,2
8	37,9	46,5	15,6
9	33,7	66,3	-
10	31,6	51,5	16,9
11	28,9	41	30,1
12	29,3	50,5	20,2
13	22,7	68,1	9,2
14	35,5	47,6	16,9
15	29,7	33,4	36,9
16	25,9	45,7	28,4
17	23,3	52,4	24,5
18	22,5	58	19,5
19	28,5	43,7	27,8
20	30,2		69,8
21	25,2		74,8
22	27	46,7	26,3
23	37,4	62,6	-
24	40	50,4	9,6
25	22,7	51,5	25,8
26	32	54	14
27	26	40	34
28	27	50	23
29	32	56	12
30	26,5		74,5
Limites	21,6-42,3	41-68,1	0-36,9
Moyenne	- 30,3	50,2	19,9
σ	$\pm 5,7$	$\beta + \text{trailing limites :}$	
		78,4-67,7	
Coefficient variation	0,18	M	69,7
		$\sigma \pm$	5,7
		σ/M	= 8,1 %

Le tableau donne les résultats de la proportion des alpha lipoprotéines, des beta lipoprotéines et du

trailing chez 30 sujets normaux. Nous constatons que le trailing a des proportions extrêmement variables, allant de 0 % à près de 40 %. Il faut considérer en fait l'ensemble de l'onde en beta et du trailing, qui constituent les beta lipoprotéines et dont les variations sont alors les mêmes en sens inverse que celles des alpha lipoprotéines. Le coefficient de variation est assez fort (18 % pour les alpha lipoprotéines), bien plus fort que les coefficients de variation des sujets normaux observés pour les fractions protidiques.

Nous n'avons pas trouvé, dans la littérature, d'autre étude précise du pourcentage des alpha lipoprotéines, la plupart des auteurs se contentant d'indiquer le rapport de 3/I ou de 4/I entre les fractions beta et alpha. (ROSENBERG (103), KUNKEL et SLATTER (60), 60 à 75 % en beta (FASOLI (29)), 70 % (PASQUET) (86).

Quant à la fraction alpha 2, elle est de l'ordre de 2 à 3 %, ce qui est également le chiffre de PASQUET pour la fraction alpha lente.

Reproductibilité -

Nous avons étudié la reproductibilité de l'analyse quantitative en faisant 9 fois et sur 3 cuves différentes l'électrophorèse d'un même sérum. Le tableau ci-dessous en donne les résultats :

	<u>Alpha lipo-</u> <u>protéines</u>	<u>Beta</u>	<u>Trailing</u>
	25	40	35
	22,5	63,4	14,1
	24	58,4	17,6
	23,5	60	16,5
	23	45	22
	24,5	56,5	19
	28	50	22
	27	55	18
	22	64	14
Limites	22-28	40-64	14-35
M	24,4	Beta + trailing	
σ	$\pm 2,0$	Limites	72 - 78
Coef. σ/M	8,2 %	M	75,6
		σ	$\pm 2,0$
		Coef. σ/M	= 2,6

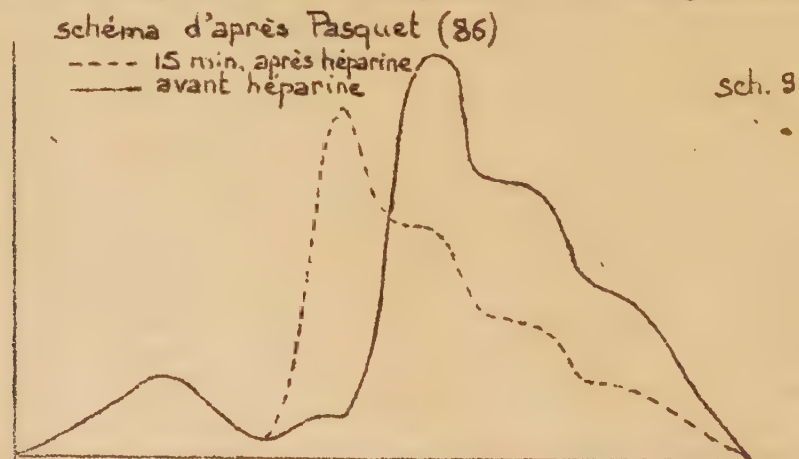
Ainsi, la reproductibilité est bonne, avec une standard déviation de l'ordre de 2,0 et un coefficient de variation pour alpha de 8,2 nettement inférieur au coefficient obtenu lors de l'examen de 30 sujets normaux différents.

Variations du lipidogramme -

Quelles sont les variations physiologiques des fractions lipoprotéiniques ? PASQUET les a particulièrement étudiées.

Il a constaté que lors de la période post-prandiale, il y avait une augmentation importante des lipoprotéines beta commençant dès une demi-heure après le repas, s'accroissant dans les 2 heures suivantes avec une migration plus rapide de la majeure partie de cette fraction qui porte son sommet en avant de celui des globulines beta (constituant une nouvelle fraction pour PASQUET, qu'il appelle "alpha très lente"..), puis retour à la normale en 4 heures.

L'héparine modifie également les lipides dans le sens de la création d'une onde plus rapide que les beta normales migrant entre alpha 2 et beta globulines.



Nous avons, pour notre part, étudié l'effet du vieillissement et celui de la chaleur.

Pour MACHEBOEUF (69), "dès que le sérum est séparé du caillot sanguin, son système lipidoprotidique commence

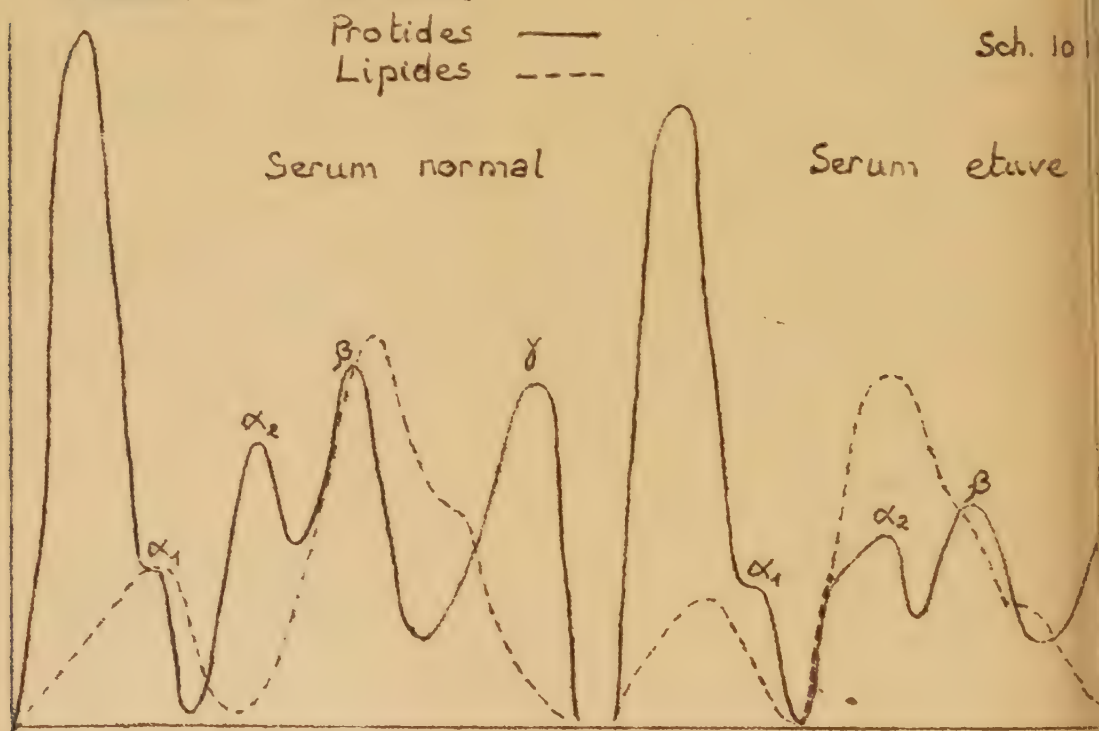
à évoluer et au bout de très peu de jours on peut percevoir par exemple de très importantes modifications de l'extractibilité des lipides par l'éther alcoolisé ou par l'éther en présence de savons (DELAGE, 1936, TAYEAN, 1939)".

Cependant, le vieillissement en glacière durant deux mois d'un sérum ne nous a pas montré le précipité d'origine lipidique signalé par Mme A. ROCH et MARQUET (IOI) et considéré par MACHEBOEUF comme le stade ultime du vieillissement des cénapses lipidoprotidiques. Peut-être le laps de temps de 2 mois est-il insuffisant. A l'électrophorèse, on note seulement une légère diminution globale du colorant fixé tant en beta qu'en alpha. Mais le pourcentage respectif des deux fractions lipoprotidiques n'est pas modifié.

Quant à la conservation en étuve à 37° durant 24 heures, elle entraîne une modification importante de la migration des lipoprotéines beta. Le sommet de leur courbe se déplace nettement en avant d'un bon centimètre et passe de sa position normale (1-2 millimètres en arrière de celui des globulines beta) à une position nouvelle en regard ou un peu en arrière du pic des globulines alpha 2.

Il semble, bien que cela soit moins net, qu'il y ait également un léger déplacement en avant des

lipoprotéines alpha dont le pic, au lieu de répondre à l'union albumine-globuline alpha 1, répondrait plus directement aux albumines.



Quant à la proportion des deux fractions, elle ne semble guère modifiée. Le tableau ci-dessus montre bien ce phénomène de la migration accentuée des lipides. Ceci pose encore à nouveau le problème de l'état des cénapses lipidoprotidiques au cours de l'électrophorèse sur papier. La chaleur dissocie-t-elle ici les cénapses lipidoprotidiques et en crée-t-elle de nouvelles avec les globulines alpha 2 ? La modification des cénapses est certaine, mais il paraît peu probable qu'il s'en crée de nouvelles avec d'autres globulines habituellement non liées ou peu liées avec des lipides.

L'hypothèse qui nous paraît la plus probable est que le chauffage du sérum détermine, comme l'héparine, comme l'hyperlipidémie post-prandiale, une modification des cénapses et surtout une modification de l'ensemble des lipoprotéines (telle que, par exemple une dépolymérisation de leur constituant globulinique) qui leur confère une mobilité plus grande en même temps que sans doute un poids moléculaire plus faible. Ceci a d'ailleurs été vérifié par l'ultra-centrifugation en ce qui concerne l'héparine (GRAHAM) (35) : on constate, après injection d'héparine, une diminution brutale des lipoprotéines de haut poids moléculaire avec une augmentation des lipoprotéines de S 2-8.

En conclusion, l'électrophorèse révèle l'existence de deux fractions lipoprotéiniques principales, alpha et bêta. Cette dernière laisse depuis l'origine une zone d'adsorption sur le papier qui serait particulièrement riche en graisse neutres et en lipoprotéines de haut poids moléculaire (lipoprotéines S = 20 de GOFMAN).

Le rapport entre les deux fractions est d'environ 2,5 à 1. Les variations en sont cependant nettement plus importantes chez le sujet normal que celles des protéines.

Enfin, l'étude du vieillissement du sérum nous a montré que, après deux mois de conservation en glacière,

les lipoprotéines dans leur ensemble fixaient moins bien le noir Soudan mais la proportion des deux fractions n'a pas modifiée de façon sensible et non plus la vitesse de migration.

Quant à la conservation en étuve à 37° durant 24 heures, elle détermine, comme l'héparine et l'hyperlipémie post-prandiale, une augmentation de la vitesse de migration des lipoprotéines bêta.

~~~~~  
-----

#### IV/- LE CHOLESTEROL -

---

L'étude du cholestérol dans les fractions lipidiques et protidiques nous a montré, chez le sujet normal, l'existence de cholestérol en deux zones répondant aux zones lipidiques. Nous avons fait porter nos dosages comme nous l'avons indiqué plus haut, sur 4 fractions :

- lipoprotéines alpha dans laquelle nous avons englobé globuline alpha 1 et albumine ;
- fraction alpha 2 où les lipides sont extrêmement réduits, nous l'avons vu ;
- fraction bêta, répondant à l'onde bêta proprement dite des lipoprotéines beta ;
- fraction gamma, répondant au "trailing" et englobant les globulines gamma.

Les résultats obtenus pour 14 sujets normaux sont consignés dans le tableau ci-dessous :

Cholestérol

| <u>Alpha 2</u>   | <u>Alpha 1</u> | <u>Beta</u> | <u>Gamma</u> | <u>Beta gamma</u> |
|------------------|----------------|-------------|--------------|-------------------|
| 2,9              | 15,4           | 54          | 27,7         | 81,7              |
| 5,2              | 16             | 52,3        | 26,5         | 78,8              |
| 5,1              | 20,3           | 38,6        | 36           | 74,6              |
| 4                | 22,7           | 41          | 32,3         | 73,3              |
| 4,5              | 22,5           | 40,2        | 32,8         | 73                |
| 0,5              | 21,8           | 43,7        | 34           | 77,7              |
| 4,5              | 22,2           | 39,3        | 34           | 73,3              |
| 3,5              | 17             | 64          | 15,5         | 79,5              |
| 1,8              | 26,8           | 55,3        | 16,1         | 71,4              |
| 4,3              | 18,5           | 66,3        | 10,9         | 77,2              |
| 4,2              | 18,1           | 72,2        | 5,5          | 77,7              |
| 2,2              | 21,5           | -           | -            | 76,3              |
| 5,2              | 24,3           | -           | -            | 70,5              |
| 4,5              | 20             | -           | -            | 75,5              |
| <hr/>            |                |             |              |                   |
| Limites 0,5-5,2  | 15,4-26,8      | -           | -            | 70,5-81,7         |
| M 3,7            | 20,6           |             |              | 75,7              |
| $\sigma \pm 1,4$ | $\pm 3,2$      |             |              | $\pm 3,2$         |
| $\sigma/M$ 37 %  | 15,5 %         |             |              | 4,2 %             |

Nous trouvons en alpha un taux de cholestérol nettement inférieur à celui qu'indique FASOLI (35-40 %) (29). Alors que ce dernier indique un parallélisme absolu avec les fractions lipidiques, nous trouvons une proportion nettement moindre en alpha que celle des lipides correspondants, et conséquemment une proportion supérieure en bêta.

Les taux moyens sont en effet :

|             | <u>Alpha lipoprotéines</u> | <u>Beta lipoprotéines</u> |
|-------------|----------------------------|---------------------------|
| Cholestérol | 20,6                       | 75,7                      |
|             | $\pm 3,2$                  | $\pm 3,2$                 |
| Lipides     | 30,3                       | 69,7                      |
|             | $\pm 5,7$                  | $\pm 5,7$                 |

Il est intéressant de comparer ces résultats à ceux de RUSS, EDER et BARR (105) obtenus par le fractionnement chimique :

|                                                                           |      |                     |
|---------------------------------------------------------------------------|------|---------------------|
| Fr. A<br>(IV, V, VI de COHN<br>essentiellement alb. + $\alpha$ 1)         | 29,3 | Limites 13,3 - 46,1 |
| Fr. B<br>(II de COHN,<br>essentiellement gamma)                           | 3,1  | 0,8 - 6,8           |
| Fr. C<br>(III <sub>0</sub> de COHN)<br>essentiellement beta               | 64,5 | 44,9 - 84,5         |
| Fr. D<br>(I + III <sub>1-2-3</sub> de COHN)<br>essentiellement $\beta$ 2) | 3,0  | 1 - 11              |

Ainsi, le fractionnement chimique donne une proportion de cholestérol supérieure à celle que nous trouvons en alpha. Mais les limites dans lesquelles varie cette proportion sont bien plus importantes que les nôtres pour lesquelles la standard déviation n'est que de  $\pm 3,2$ .

BLIX, TISELIUS et SVENSSON (12) trouvaient, par l'analyse chimique des fractions de l'électrophorèse classique, 64 % en beta, 35 % dans les fractions migrant plus vite. NIKKILA (81), qui a étudié le cholestérol dans l'électrophorèse sur papier par une méthode proche de la nôtre, trouve :

61-70 % en beta-gamma, 20-30 % en alpha 1, 9-12 % en alpha 2

La forte proportion en alpha 2 nous surprend. Nous

trouvons pour notre part, de 0 à 5 % en alpha 2 et les fortes variations d'un sujet à l'autre nous font penser qu'une bonne partie de ce cholestérol est vraisemblablement à rattacher à l'une des deux grandes fractions (et plutôt aux lipoprotéines beta dont la migration vient quelquefois jusqu'au contact de alpha 2).

.....  
En conclusion, le dosage du cholestérol dans les fractions lipoprotéiques nous a montré la présence de 20,5 du cholestérol dans la fraction des lipoprotéines alpha et de 75,7 % dans la fraction beta. Une petite proportion de l'ordre de 0 à 5 % peut se trouver en alpha 2 .

.....  
.....

V/- LE GLUCIDOGRAMME -

Aspect

La bande colorée au Périodic-Acid- SCHIFF montre 4 fractions principales qui sont, de la cathode vers l'anode :

- Une faible coloration rosée en regard des gamma globulines,

- Une bande violette fortement colorée, étroite de 6-8 mm., répondant aux globulines beta,

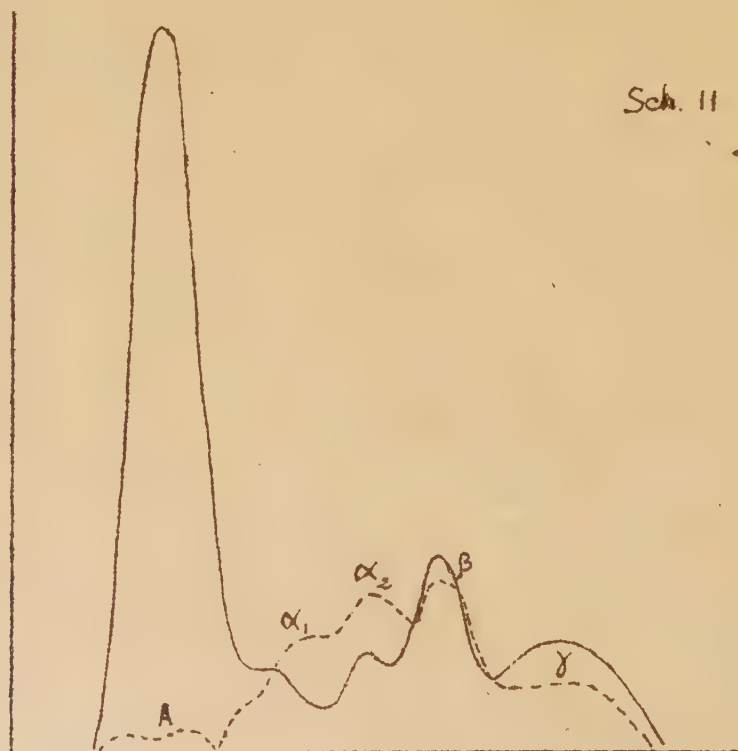
- Une bande rosée bien colorée, un peu plus large, glucoprotéine alpha 2 ;

- Une dernière bande, nette, un peu moins colorée que la précédente, souvent onduleuse, en regard d'alpha 1, qui comporte en général deux parties colorées différemment celle qui est du côté de la cathode est rosée, celle du côté de l'anode lilas très faible ;

- Enfin, il existe quelquefois une coloration extrêmement légère, difficilement appréciable à l'oeil nu, tranchant à peine sur le fond du papier, en regard des albumines.

Courbe -

La photométrie directe de cette bande après clarification au moyen du mélange huile de paraffine-alpha bromonaphtalène donne une courbe caractéristique. On voit sur cette courbe que les pics de beta et alpha 2 glucoprotéines répondent à peu près à ceux des globulines correspondants. Le pic des alpha 1 est un peu en retard sur le pic correspondant des globulines. La courbe de cette dernière fraction a un ressaut au changement de coloration que nous venons de signaler. Il faut noter enfin que la coloration des fractions gamma et alpha 1 subit de grosses variations d'intensité d'un sujet normal à un autre



Etude quantitative -

L'évaluation quantitative des fractions glucidiques n'a pu, malgré nos tentatives, être faite par élution. Force nous a été donc de recourir à la photométrie directe de la bande avec tous les aléas que cela comporte, car, ici, comme pour les protides, la détermination du 0 est extrêmement difficile. Il nous a paru cependant que la ligne de base devait être prise au pied des fractions alpha 1 et gamma. C'est selon cette ligne qu'ont été calculées les surfaces des différentes glucoprotéines. Les résultats obtenus chez 20 sujets normaux sont consignés ci-dessous :

| <u>Glucides</u>     |                |               |                  |                  |
|---------------------|----------------|---------------|------------------|------------------|
|                     | <u>Gamma %</u> | <u>Beta %</u> | <u>Alpha 2 %</u> | <u>Alpha 1 %</u> |
| 1                   | 15             | 41,2          | 28,8             | 15               |
| 2                   | 11             | 39,0          | 30,5             | 19,5             |
| 3                   | 17,7           | 38,7          | 20,9             | 22,7             |
| 4                   | 11,3           | 25,9          | 32,0             | 30,8             |
| 5                   | 9,2            | 30,8          | 31,0             | 29               |
| 6                   | 23,5           | 35,3          | 23,5             | 17,7             |
| 7                   | 18,2           | 27,6          | 29,1             | 25,1             |
| 8                   | 11,1           | 32,0          | 34,6             | 22,3             |
| 9                   | 9,7            | 33,0          | 33,0             | 24,3             |
| 10                  | 26,0           | 34,0          | 30,0             | 10               |
| 11                  | 12,8           | 33,8          | 28,5             | 24,9             |
| 12                  | 27,3           | 23,9          | 24,8             | 24               |
| 13                  | 15,0           | 34,0          | 32               | 19               |
| 14                  | 12,5           | 30,0          | 33               | 24,5             |
| 15                  | 24,9           | 39,0          | 22,6             | 13,5             |
| 16                  | 22,6           | 30,0          | 27,4             | 20               |
| 17                  | 22,4           | 31,6          | 24,5             | 21,5             |
| 18                  | 22,3           | 34,3          | 21,7             | 21,7             |
| 19                  | 20,0           | 35,0          | 26,5             | 18,5             |
| 20                  | 14,0           | 34,0          | 31,7             | 20,3             |
| Limites             | 9,7-27,3       | 23,9-41,2     | 20,9-34,6        | 15-30,8          |
|                     | 17,3           | 33,1          | 28,3             | 21,2             |
|                     | ± 5,9          | ± 4,3         | ± 4,2            | ± 4,95           |
| coeff. de variation | 34,1 %         | 12,0 %        | 14,8 %           | 23,3 %           |
| (σ/M)               |                |               |                  |                  |

Le pourcentage des fractions correspond bien à ce que l'on pouvait attendre de l'inspection des bandes colorées.

Il y a deux fractions importantes, beta et alpha qui représentent environ 33 % et 28 % des glucoprotéines sériques. La fraction alpha 1 est environ de 21 %. Quant à la fraction gamma, elle est, du fait de sa largeur, supérieure à ce que l'on pourrait attendre de sa faible coloration et atteint environ 17 %.

Ceci correspond plus ou moins aux résultats de PASQUET (86) qu'il exprime en surface (mm<sup>2</sup>) :

|         | <u>Albumine</u> | <u>Alpha 1</u> | <u>Alpha 2</u> | <u>Beta</u> | <u>Gamma</u> |
|---------|-----------------|----------------|----------------|-------------|--------------|
| PASQUET | 25              | 75             | 200            | 200         | 200          |
| Auteur  | 3 à 5 %         | 21,2 %         | 28,3 %         | 33,1 %      | 17,3 %       |

Cependant, nous trouvons en alpha 1 une fraction plus importante et en gamma au contraire une fraction moins importante.

On peut constater l'importance du coefficient de variation chez les sujets normaux de ces ondes gamma et alpha 1. Elle répond aux variations importantes que nous avons déjà signalées lors de la simple inspection des bandes.

Dans l'ensemble, néanmoins, les proportions obtenues nous ont paru pouvoir parfaitement servir de base à l'étude des cas pathologiques. Dans certains cas, en outre, la comparaison des surfaces obtenues avec celles du sérum témoin, toujours associé sur la même bande et

coloré en même temps; nous a été fructueuse. Mais nous n'admettons pas les conclusions de PASQUET qui établit des normes spatiales et s'y réfère pour juger les glucidogrammes pathologiques. Il y a, à notre avis, beaucoup trop de variations dans l'intensité de la coloration des protides à l'Amido-Schwarz et il n'est pas question de juger les protides d'après les normes spatiales.

### Reproductibilité -

Signalons en terminant, que l'étude de la reproductibilité d'un même sérum au cours de 8 électrophorèses différentes nous a donné les résultats suivants :

|            | <u>Alpha 1</u> | <u>Alpha 2</u> | <u>Beta</u> | <u>Gamma</u> |
|------------|----------------|----------------|-------------|--------------|
| 1          | 20             | 27             | 33          | 20           |
| 2          | 22             | 28             | 30,5        | 19,5         |
| 3          | 20             | 25             | 31          | 24           |
| 4          | 16             | 22             | 36          | 26           |
| 5          | 18,5           | 26,5           | 35          | 20           |
| 6          | 21,7           | 23             | 33          | 22,3         |
| 7          | 21,5           | 24,5           | 31,6        | 22,4         |
| 8          | 18,7           | 23,5           | 34,3        | 23,5         |
| Limites    | 16-22          | 22-28          | 30,5-36     | 19,5-26      |
| M          | 19,8           | 24,9           | 33,0        | 22,3         |
| $\sigma$   | $\pm 2 \%$     | $\pm 2,1$      | $\pm 1,95$  | $\pm 2,3$    |
| $\sigma/M$ | 10,1 %         | 8,4 %          | 5,9 %       | 10,3         |

### Vieillissement

Quant à l'effet du vieillissement du sérum sur le glucidogramma, il semble qu'il détermine une certaine diminution des glucoprotéines beta.

En conclusion, la coloration par le Periodic-Acid-Schiff donne 3 bandes très nettes en beta, alpha 2 et alpha 1, une coloration légère en gamma, une onde inconstante en albumine. Nous considérons que le pourcentage des fractions, bien qu'il présente des variations importantes chez les sujets normaux, peut servir de base à l'étude des cas pathologiques.

-----

TROISIEME PARTIE

---

LE SEROGRAMME PATHOLOGIQUE

---



I/- RAPPEL DES PRINCIPALES ANOMALIES DU SEROGRAMME  
DANS LA PATHOLOGIE EN GENERAL

Avant d'entreprendre l'étude du sérogramme dans les maladies de l'appareil digestif, nous rappellerons brièvement ses principales caractéristiques dans la pathologie en général.

Dans les maladies infectieuses, on note en général une augmentation des gamma globulines qui sont le support des anticorps. Celle-ci prend des proportions considérables dans certaines maladies exotiques et nous citerons notamment, avec BENHAMOU(5), le kala-azar, la lèpre, le paludisme, le typhus, la brucellose. Toutes les septicémies s'accompagnent de même d'une grosse gamma. La variole aurait une gamma globuline élevée, la vaccine, d'après BENHAMOU, n'aurait aucune élévation de gamma. Cette élévation des gamma globulines aurait non seulement dans certains cas un intérêt diagnostique(notamment la "monstrueuse" gamma du Kala-azar), mais aussi un intérêt considérable pour suivre l'évolution d'une maladie infectieuse : toute persistance de cette anomalie sérique traduisant la persistance du processus pathologique.

Deux maladies infectieuses auraient, à côté de l'augmentation des gamma globulines, une augmentation importante des beta globulines : la maladie de Nicolas Favre et la fièvre typhoïde, où BENHAMOU a montré que l'antigène O déterminait une élévation des bêta globulines, l'antigène Vi une élévation des gamma.

Enfin, deux maladies sont caractérisées par une grosse élévation des globulines alpha 2 : la tuberculose et le rhumatisme articulaire aigu.

Ceci s'accompagne d'une élévation des alpha 2 glucoprotéines, ce qui n'a rien d'étonnant puisque cette fraction représente essentiellement l'haptoglobine. PASQUET (86) a particulièrement étudié l'anomalie des glucoprotéines dans le rhumatisme articulaire aigu et a montré qu'à côté de l'élévation de la fraction alpha 2, qui est le signe essentiel, il y a constamment une élévation de l'ensemble des fractions glucidiques. Il signale de plus que dans le rhumatisme articulaire aigu il y aurait une élévation des sucres acides répondant à l'albumine qui, d'après BENHAMOU, manquerait dans la tuberculose.

KAUFMAN (50) a recherché les bases profondes de ces modifications et distingué ainsi trois types de phénomènes inflammatoires :

- Ceux qui entraînent une hyperglobulinémie alpha 2 et une hyperleucocytose avec polynucléose. L'origine de

L'hyperglobulinémie alpha pourrait être locale ou générale : dans le premier cas naîtraient des globulines alpha au sein du foyer inflammatoire qui, se déversant dans la circulation, se fixeraient sur la moelle osseuse et provoqueraient la leucocytose (leucocytosing promoting factor) ; dans le deuxième cas, les deux phénomènes seraient d'origine endocrine, hypophyso-surrénalienne ; on observe d'ailleurs dans ces phénomènes inflammatoires du type alpha les mêmes symptômes humoraux que dans les phénomènes de stress : augmentation du catabolisme protidique avec augmentation de la néoglycogénie donnant une élévation du sucre libre (hyperglycémie) et du sucre lié aux protéines : hyperglycoprotéinémie.

- les phénomènes inflammatoires avec hyperglobulinémie gamma et leucopénie. L'hyperglobulinémie gamma est due à l'hyperfonctionnement du système réticulo-endothélial avec apparition des anticorps.

- enfin, des phénomènes inflammatoires avec hyperglobulinémie alpha et gamma, qui joignent aux réactions neurovasculaires et au stress l'hyperfonctionnement réticulo-endothélial et l'apparition des réactions immunologiques.

Signalons enfin une application extrêmement intéressante de l'électrophorèse sur papier : GIROUD & GANZIN (32) ont mis en évidence dans un cas de rickettsiose des agglutinines masquées en éluant la fraction gamma globuline qui s'est avérée positive, alors que le séro-diagnostic du malade était négatif.

Dans les maladies du rein, KUNKEL & SLATTER (60), étudiant les premiers à l'électrophorèse sur papier la néphrose lipoïdique, trouvaient une onde lipidique large et irrégulière avec 1 à 3 clochers dans la région intermédiaire à alpha et bêta. Nous-même, avons noté dans 3 cas de néphrose la disparition complète des alpha lipoprotéines et la présence d'une volumineuse onde bêta, migrant plus vite que les lipoprotéines bêta normales. Le dosage du cholestérol que nous avons fait dans ces 3 cas montrait l'absence de cholestérol dans toutes les zones plus rapides que cette onde, avec des taux de cholestérol au niveau de l'onde lipidique et du trailing de 9 g.50, 4 g.50 et 8 g. qui représentaient respectivement à peu de chose près les taux de cholestérol total de ces malades. PASQUET a repris cette étude de la néphrose lipoïdique et arrive aux mêmes conclusions.

Il a comparé des cas de néphrose lipoïdique, d'amylose et de néphrite avec syndrome lipidoprotidique et trouve des résultats à peu près similaires :

- sur les protides : hypo-albuminémie, hypoglobulinémie alpha 1, gamma, hyperprotéinémie alpha 2 et bêta (cette dernière décapitée par la délipidation) ;
- sur les lipides : diminution ou disparition des alpha lipoprotéines, hyperlip<sup>no</sup>protéinémie alpha très lente (rappelons qu'il dénomme ainsi la partie des bêta lipoprotéines qui migre au avant des bêta globuline

- sur les glucides, hyceroglucoprotéinémie alpha 2.

Il note cependant une certaine différence dans la migration de la grande onde lipidique, le pic étant en avant des beta globulines dans la néphrose, alors qu'il serait au niveau normal dans l'amylose et le syndrome lipido-protidique de la néphrite chronique.

Quant aux urines de ces malades, elles montreraient un diagramme semblable à celui d'un sérum normal (BENHAMOU et POLONOVSKI) (6).

.....  
Dans les maladies du coeur, on conçoit avant tout l'intérêt du sérogramme pour faire le diagnostic dans certains cas difficiles entre rhumatisme cardiaque évolutif et maladie d'Osler. Dans le premier cas, on aura une augmentation des globulines alpha 2, plus exactement des glucoprotéines alpha 2, caractéristique, alors qu'on ne notera dans le second qu'une augmentation des gamma globulines.

On sait également l'intérêt de l'alpha 2 dans l'infarctus du myocarde qui, d'après SIBILLE (110), s'élève de façon marquée à partir des premiers jours, qui suivent l'infarctus et dont le taux reste en parallélisme étroit avec la gravité de l'évolution. Il y aurait un maximum au cours des deux premières semaines; ensuite, dans les cas favorables, le taux des alpha 2 redescend vers la fin du premier mois ou au début du deuxième mois pour se stabiliser à un taux voisin de la limite

supérieure du taux normal. Dans les cas défavorables au contraire, les globulines alpha 2 restent élevées, parfois d'ailleurs après un retour passager à un chiffre voisin de la normale.

Enfin, dans les maladies des vaisseaux, on connaît la valeur de l'augmentation considérable de la gamma globuline dans la périartérite noueuse.

Quant à l'artériosclérose, MALMROS et SWAHN (76), RAYNAUD et ses collaborateurs (94) ont montré une augmentation des lipoprotéines bêta. Nous avons nous-même, dans les quelques cas que nous avons étudiés, retrouvé cette augmentation des lipoprotéines bêta et le dosage du cholestérol dans les fractions que nous avons pratiqué chez 3 malades atteints de xanthomatose nous a donné une grosse augmentation en bêta. J.P. SOULIER & ALAGILLE (113) parlent seuls d'une augmentation des alpha 1, alpha 2 et bêta lipoprotéines dans l'athérosclérose.

Dans les maladies du sang, on connaît dans le myélome l'énorme pic globulinique qui, selon les cas, peut siéger en alpha, bêta ou gamma.

Dans les maladies endocrines, MAHAUX & KOIW (75) ont montré dans le myxoedème une augmentation considérable des lipoprotéines bêta qui diminuent secondairement sous l'influence du traitement par l'extrait thyroïdien.

Ainsi, pour ne parler que des modifications caractéristiques du sérogramme, nous voyons quelle importance a pris, d'ores et déjà, cette méthode de diagnostic dans la clinique médicale courante. Nous avons, pour notre part, étudié le sérogramme dans les maladies de l'appareil digestif, essentiellement maladie du foie, ulcère, gastrectomisés.



## II/- LE SEROGRAMME DANS LES MALADIES DU FOIE-

---

Il y a longtemps que l'on s'est attaché à révéler les anomalies sériques au cours des maladies du foie et c'est au sujet de l'insuffisance hépatique dans la cirrhose et surtout dans les ictères qu'est apparue la floraison de tests de flocculation dont nous avons déjà parlé.

Lorsqu'est apparue l'électrophorèse de TISELIUS, la première électrophorèse dans une maladie du foie qui soit publiée fut celle de LONGSWORTH, SHEDLOVSKY et Mac INNES (65), en 1939, portant sur un cas d'ictère par rétention. GRAY & BARRON (39), en 1943, firent le premier travail d'ensemble sur les maladies du foie portant sur 12 cas de cirrhose, 7 cas de cancer du foie, 5 cas d'ictère par rétention, 5 cas d'ictère par hépatite. WIEDEMANN (132), en 1946, rapporte un cas de cirrhose ; WUHRMANN et WUNDERLY (136) étudient quelques cas de cirrhose, en 1946 ; ZOLLNER (137) rapporte quelques cas, en 1950 ; KNEDEL (55), en 1951, Un second travail important et de gros intérêt fut fait par STERLING, RICKETS et collaborateurs (98, 99, 115, 115 b, 116), en 1949, portant sur 10 cas de cirrhose portale, 10 cas de cirrhose biliaire et 10 cas

### d'hépatite épidémique.

Depuis l'apparition de l'électrophorèse sur papier quelques cas de cirrhose ont été publiés. MACHEBOEUF (70) en publie 3 cas avec étude de l'ascite, en 1951. OTT, HUBER et KORVER (85), en 1952, rapportent l'étude des protéines dans 2 cas de cirrhose simultanément par l'électrophorèse sur papier (colorée à l'azocarmin) et par l'électrophorèse classique.

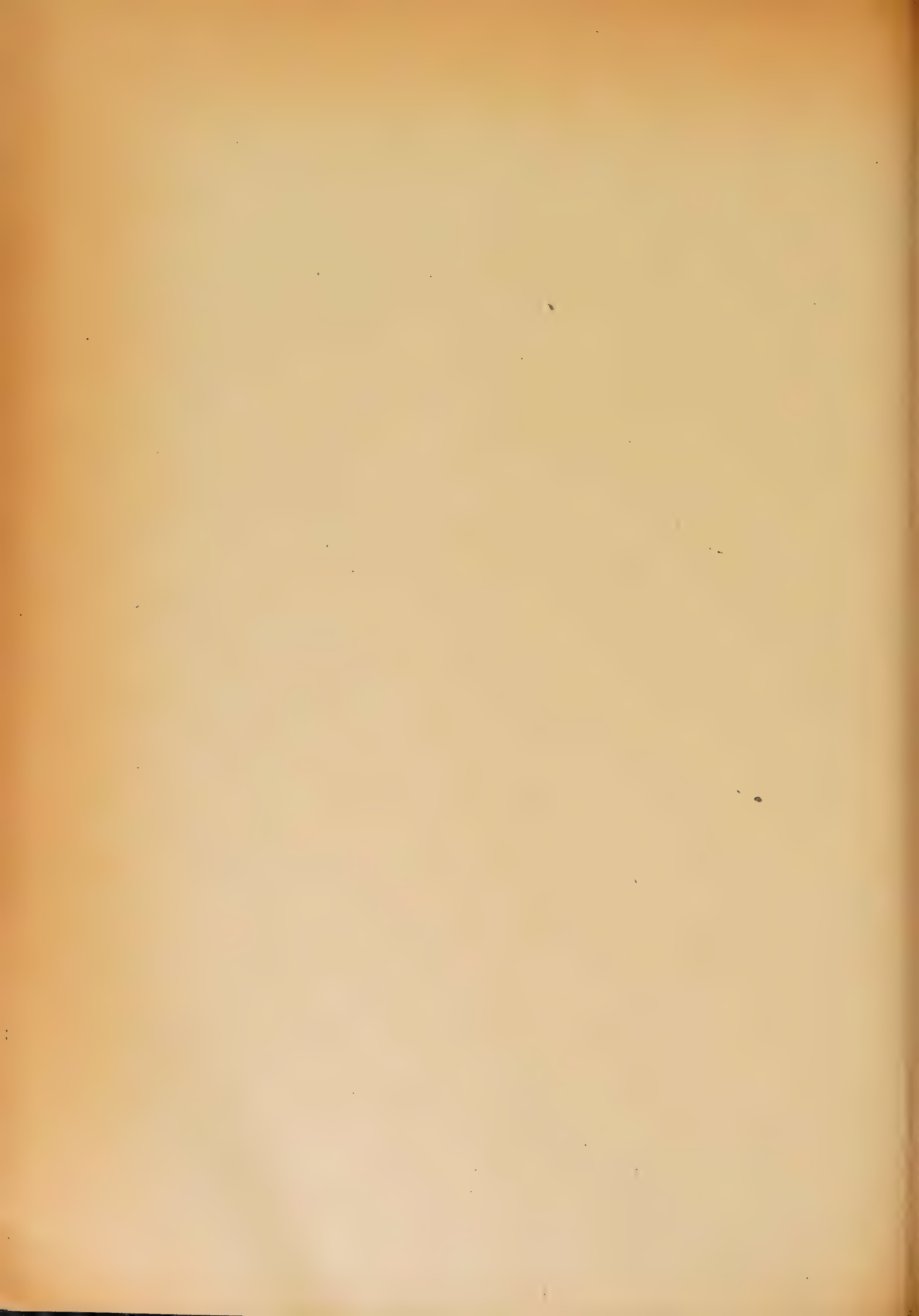
KUNKEL & SLATTER (60) étudient, en 1952, les lipoprotéines dans la cirrhose biliaire et notent une forte onde en bêta avec diminution ou disparition complète des lipoprotéines alpha. Ils signalent dans 2 cas d'ictère par rétention dus respectivement à un cancer du foie et à un calcul du cholédoque une onde semblable en bêta avec disparition de l'onde alpha. BRANTE (13), en 1952, fait un gros travail sur les protides dans les maladies du foie et des voies biliaires. BENHAMOU (6), en 1953, décrit la grosse gamma globuline et la diminution de l'albumine dans la cirrhose, ce qui est conforme à ce qu'il avait déjà décelé par l'électrophorèse classique en 1950 (4). Il signale de plus que l'ascite dans la cirrhose a une formule analogue à celle d'un sérum normal.

Dans les ictères, l'augmentation de bêta serait moins intense que le pic de l'électrophorèse classique. Par

contre, l'augmentation des gamma globulines serait nette lorsqu'il s'agit d'une hépatite.

PASQUET (86), en 1954, signale la disparition des lipoprotéines alpha dans l'insuffisance hépatique grave.

---



INVESTIGATIONS PERSONNELLES -

I - LA CIRRHOSE -

Nous rapportons personnellement 35 cas de cirrhose dans lesquels nous avons étudié :

- le fractionnement protidique dans tous les cas,
- le fractionnement lipidique dans 28 cas,
- le dosage du cholestérol dans les fractions dans 13 cas,
- le fractionnement glucidique dans 15 cas.

Le sérogramme typique de la cirrhose -

La photographie ci-dessous montre le sérogramme typique de la cirrhose.

- La bande protidique (la deuxième à partir du haut) montre par rapport au sérum témoin une teinte moins foncée de l'albumine, surtout une tache énorme englobant bêta et gamma globulines. Il n'y a <sup>/presque</sup> plus de séparation entre ces deux fractions et l'effacement de cette séparation qui s'observe également dans l'électrophorèse libre a été mis, par GRAY & BARRON (39), sur le compte d'une fraction anormale qui viendrait se placer entre beta et gamma. WUHRMANN (135) partage cette opinion. VIOLLIER (130), observant également cette onde anormale entre beta et gamma dans la cirrhose, pense qu'il s'agit d'un corps protéinique inconnu (protéine H) dont, dit-il, la concentration pourrait atteindre 8 %.

- Les bandes lipidiques (au-dessous de la bande protidique) montrent une diminution globale de la coloration des deux fractions lipoprotéiniques, portant néanmoins plus sur les alpha lipoprotéines.

- La bande glucidique (au-dessus de celle des protides) montre une onde importante en gamma, beaucoup plus importante que chez le témoin. Par contre, l'onde beta paraît diminuée.

L'évaluation quantitative des différentes bandes nous a donné les résultats suivants :

#### 1- Le fractionnement protidique -

L'étude quantitative du fractionnement protidi-



| No           | Alb%          | alpha1        | alpha2        | beta          | gamma         | A/G  | A/CcH. | Alb gr. | alp |
|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|------|--------|---------|-----|
| Sujet normal | 56,3<br>± 3,1 | 5,4<br>± 0,75 | 8,4<br>± 0,95 | 13,3<br>± 0,8 | 16,6<br>± 1,6 | 1,29 | 1,5    | 45      | 4,  |
| 1            | 33            | 4,2           | 5,6           | 7,7           | 49,5          | 0,49 | 0,85   | 24,2    | 1,  |
| 2            | 31            | 2,1           | 6             | 16            | 44,9          | 0,44 | 0,70   | 22,3    | 1,  |
| 3            | 27,8          | 3             | 8,2           | 19,7          | 41,3          | 0,40 | 0,49   | 21,4    | 1,  |
| 4            | 34,6          | 5             | 6,6           | 10            | 43,8          | 0,53 | 0,80   | 25,9    | 2,  |
| 5            | 38,4          | 5,4           | 5,1           | 11,4          | 39,7          | 0,60 | 0,70   | 33,3    | 3,  |
| 6            | 25,9          | 4,6           | 5             | 12,5          | 52            | 0,33 | 0,33   | 19,8    | 4,  |
| 7            | 30,5          | 11            | 11,2          | 18,1          | 29,2          | 0,50 | 0,93   | 20,7    | 3,  |
| 8            | 30            | 5,8           | 7,5           | 17,6          | 38,1          | 0,50 | 0,79   | 23,6    | 7,  |
| 9            | 22,5          | 7             | 9,5           | 22            | 39            | 0,49 | 0,67   | 25,6    | 4,  |
| 10           | 32,5          | 6,6           | 9,6           | 11,3          | 40            | 0,49 | 0,83   | 21,4    | 5,  |
| 11           | 32,3          | 8,5           | 10            | 8,5           | 40,7          | 0,51 | -      | 24,2    | 4,  |
| 12           | 44,3          | 4,9           | 7,5           | 11            | 32,3          | 0,70 | 1,65   | 32,3    | 6,  |
| 13           | 38,1          | 7,4           | 10,8          | 17            | 26,7          | 0,52 | 1,04   | 26,4    | 3,  |
| 14           | 38,6          | 9             | 8,5           | 13,9          | 30            | 0,61 | 0,95   | 21      | 5,  |
| 15           | 43,5          | 4,5           | 6,6           | 9,7           | 35,7          | 0,75 | 0,87   | 33,5    | 4,  |
| 16           | 30,8          | 7,2           | 7,8           | 14,2          | 40            | 0,47 | 0,73   | 24,9    | 3,  |
| 17           | 34,1          | 5,1           | 7,8           | 17            | 36            | 0,55 | 0,89   | 32,7    | 5,  |
| 18           | 33,6          | 6,1           | 7,8           | 14,2          | 38,3          | 0,50 | -      | 26,5    | 4,  |
| 19           | 37,5          | 8             | 7,5           | 14            | 33            | 0,60 | 0,81   | 28,5    | 4,  |
| 20           | 28,9          | 5,9           | 7,5           | 16,5          | 39,2          | 0,40 | -      | 22,5    | 6,  |
| 21           | 32,5          | 6             | 7             | 12,5          | 42            | 0,48 | 0,60   | 23,4    | 4,  |
| 22           | 41,6          | 6,5           | 9             | 13,5          | 29,4          | 0,71 | -      | 31,6    | 4,  |
| 23           | 40,5          | 4,5           | 6,9           | 11            | 38,1          | 0,68 | 0,88   | 30,4    | 4,  |
| 24           | 25,5          | 4,8           | 4,7           | 12,7          | 52,3          | 0,34 | 0,60   | 20,1    | 3,  |
| 25           | 28,7          | 7,2           | 9,3           | 12,9          | 41,7          | 0,40 | -      | -       | 3,  |
| 26           | 42,3          | 5,6           | 7             | 13,2          | 31,9          | 0,73 | 1,05   | 33      | -   |
| 27           | 47,5          | 5             | 6,2           | 8,8           | 32,5          | 0,90 | 0,75   | 34,2    | 4,  |
| 28           | 33,5          | 4             | 9,6           | 18            | 33,9          | 0,50 | 0,70   | 20,1    | 3,  |
| 29           | 27,8          | 8,4           | 9,6           | 13,5          | 40,5          | 0,38 | 0,60   | 20,2    | 2,  |
| 30           | 35,5          | 8,5           | 11,8          | 15,5          | 38,5          | 0,55 | -      | -       | 6,  |
| 31           | 30,5          | 7,5           | 11,6          | 17,5          | 32,9          | 0,44 | -      | -       | -   |
| 32           | 45,2          | 5,7           | 12,2          | 14,1          | 22,8          | 0,81 | 1,06   | 32,4    | 4,  |
| 33           | 50,7          | 5,9           | 9,4           | 11            | 23            | 1,06 | 1,11   | 35,7    | 4,  |
| 34           | 50            | 8             | 10            | 13            | 19            | 1    | -      | 39,5    | 6,  |
| 35           | 48            | 7,1           | 10,4          | 13,7          | 2,8           | 0,92 | -      | 37,4    | 5,  |
| M            | 35,6          | 6,2           | 8,3           | 12,8          | 37,1          |      |        | 27,1    | 4,3 |

| alpha2:beta |       | gamma | DIAGNOSTIC                            |
|-------------|-------|-------|---------------------------------------|
| 72          | 10,64 | 13,28 |                                       |
| 6           | 12,4  | 35,5  | Cirrhose de Laënnec                   |
| 3           | 11,5  | 32,3  | " "                                   |
| 3           | 15,1  | 31    | Cirrhose hypertrophique ascitique     |
| 9           | 7,5   | 32,8  | " " "                                 |
| 3           | 9,6   | 33,7  | " " "                                 |
| 9           | 9,9   | 41,3  | Cirrhose de Laënnec                   |
| 7           | 12,4  | 20,1  | Cirrhose hypertrophique ascitique     |
| 8           | 13,7  | 29,7  | Cirrhose maligne                      |
| 4           | 17,1  | 30,4  | " "                                   |
| 3           | 7,4   | 26,4  | Cirrhose hypertrophique ascitique     |
| 2           | 6,1   | 29,3  | Cirrhose maligne + microabcès du foie |
| 5           | 8     | 23,7  | Cirrhose hypertrophique ascitique     |
| 5           | 11,8  | 18,5  | " " "                                 |
| 7           | 7,7   | 16,6  | " " "                                 |
| 1           | 7,5   | 27,8  | Syndrome de Banti                     |
|             | 11    | 31,2  | Cirrhose de Laënnec                   |
| 1           | 15,5  | 32,9  | Cirrhose hypertrophique ascitique     |
| 1           | 11,2  | 30,2  | " " "                                 |
| 7           | 10,6  | 25    | " " "                                 |
| 8           | 12,8  | 30,5  | " " "                                 |
|             | 9     | 30,2  | " " "                                 |
| 8           | 10,2  | 22,3  | " " "                                 |
| 1           | 8,2   | 23,5  | Cirrhose hypertrophique anascitique   |
| 7           | 10    | 41,3  | Syndrome ictéro-hémorragique          |
|             | -     | -     | Cirrhose hypertrophique ascitique     |
| 5           | 10,4  | 25,2  | Ictère aggravé cirrhogène             |
| 4           | 6,3   | 23,4  | Cirrhose hypertrophique ascitique     |
| 7           | 10,8  | 20,3  | " " "                                 |
| 2           | 9,8   | 29,5  | " " "                                 |
|             | -     | -     | Cirrhose de Cruveilhier-Baumgarten    |
|             | -     | -     | Cirrhose hypertrophique ascitique     |
| 7           | 10,8  | 16,4  | Cirrhose pigmentaire                  |
| 5           | 7,7   | 16,1  | " "                                   |
| 9           | 10,2  | 15    | Cirrhose éthylique anascitique        |
| 1           | 10,6  | 16,2  | " " "                                 |
| 9           | 10,4  | 26,9  |                                       |



que dans la cirrhose (voir tableau ) nous a montré une grosse élévation des gamma globulines, qui est constante. Elle atteint souvent des chiffres importants, dépassant même fréquemment le pourcentage de l'albumine. L'albumine est considérablement diminuée.

Quant aux fractions globuliniques, on peut constater que les beta globulines sont élevées au-dessus de la normale dans 10 cas seulement et que cette élévation est peu importante. Cette proportion est sensiblement la même que celle de GRAY et BARRON (39) qui trouvent une augmentation des beta globulines dans 4 cas sur 11. STERLING et RICKETTS (115) ont cependant une élévation dans 5 cas sur 6, qui atteint 26,9 % dans l'un des cas, 32,6 % dans un autre... La moyenne des beta dans nos 35 cas est égale à la normale.

Enfin, il y a une élévation notable des globulines alpha 1 dans 8 cas, des alpha 2 dans 5 cas. GRAY et BARRON (loc. cit.) signalent également dans 5 cas sur 12 une élévation des globulines alpha dans leur ensemble. On peut constater une élévation des alpha 1 dans 2 cas sur 5 chez STERLING (loc. cit.). Quoi qu'il en soit, si proportionnellement la moyenne des alpha 1 est légèrement élevée, la moyenne pondérale est normale. alpha 2 est normale proportionnellement et pondéralement.

Dans 2 cas de cirrhose pigmentaire (cas 32 et 33), nous avons un taux des gamma globulines beaucoup moins élevé que dans les cirrroses banales, avec un rapport sérine/globuline beaucoup moins bas : 0,81 et 1,04. Quant à la diminution des

béta globulines signalée par HOET (46), de Louvain, et d'ailleurs assez paradoxalement puisque ce sont les beta qui transportent la ferritine, nous constatons un léger abaissement de leur taux dans le cas 33, un taux normal dans le cas 32.

Un syndrome de Banti typique donne un tableau protidique de cirrhose banale.

Enfin, 2 cas de gros foie sans ascite chez des éthyliques, dont l'un (cas 34) a montré à la ponction-biopsie du foie un début de sclérose sans atteinte de la cellule hépatique, montrent une élévation discrète des globulines gamma et alpha 1 et 2, avec un rapport sérine/globuline abaissé.

En ce qui concerne ces hépatomégalias anascitiques de l'éthylique, les avis sont assez partagés. GRAY et BARRON trouvent seulement une hypoalbuminémie un peu plus importante dans les cirrroses ascitiques que dans les cirrroses anascitiques, encore que les anomalies protidiques puissent être aussi marquées chez les malades anascitiques. STERLING (116), dans 7 cas sans ascite trouve des variations considérables à l'électrophorèse depuis les anomalies protidiques les plus marquées jusqu'à des résultats subnormaux dans 3 cas.

Enfin, dans un cas de cirrhose xanthomateuse, qu

nous n'avons pas fait figurer sur notre tableau, nous trouvons une élévation marquée des beta globulines à 23 % avec des gamma globulines peu élevées.

Nous n'avons pu étudier l'évolution des cirrhoses que dans un laps de temps assez court (5-6 mois) et ceci ne nous a pas permis de noter en général de modifications protidiques importantes. Dans un cas de cirrhose hypertrophique, où l'amélioration clinique a été spectaculaire, l'ascite rapidement asséchée et le foie bien diminué de volume, l'anomalie protidique est restée pratiquement inchangée :

|          |           |               |               |   |
|----------|-----------|---------------|---------------|---|
| 8-II-54  | Alb. 39,2 | - alpha 1 5,4 | - alpha 2 5,1 | - |
|          | béta 11,4 | gamma 39,7    |               |   |
| 15-IV-54 | Alb. 35,7 | - alpha 1 4,7 | - alpha 2 6,6 |   |
|          | beta 16,7 | gamma 36,3    |               |   |

STERLING et RICKETTS (115), qui ont bien étudié l'évolution de la cirrhose (mais à Chicago), concluent que les altérations des fractions protidiques n'y sont pas irréversibles et voient en général, sous l'influence d'un régime hypercalorique riche en protides et en hydrates de carbone durant plus de 10 mois, l'amélioration progressive du sérum parallèlement à l'amélioration clinique. Cette amélioration est d'ailleurs beaucoup plus nette & régulière du point de vue pondéral que si l'on considère le

pourcentage des fractions qui reste longtemps anormal, parfois même inchangé au bout d'un an. Cependant, dans 5 cas de cirrhose guéris depuis plus de 2 ans, l'électrophorèse a montré une proportion des fractions protidiques pratiquement normale.

## 2- Le fractionnement lipidique -

L'étude quantitative du lipidogramme nous a montré, en général, comme à KUNKEL et SLATTER, une diminution importante de la fraction alpha par rapport à la fraction beta, mais ceci n'est pas absolument constant. Le tableau ci-joint donne d'une part le pourcentage des fractions, d'autre part le rapport des surfaces de l'onde beta du malade et de celle du témoin migré sur la même bande et coloré en même temps.

(tableau, page suivante)

| Numéro          | Lipopro-<br>téine | Onde<br>beta    | Trailing       | Lipopro-<br>téines | Rapport<br>des<br>surfaces<br>beta M/T | Diagnostic                                                     |
|-----------------|-------------------|-----------------|----------------|--------------------|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| Sujet<br>normal | 30,3<br>± 5,7     | 50,2<br>41-68,1 | 19,9<br>0-36,9 | 69,7<br>± 5,7      |                                        |                                                                |
| 1               | 0                 | 53              | 47             | 100                | 0,62                                   | Cirrhoses ascitiques banales<br>atrophiques ou hypertrophiques |
| 2               | 0                 | -               | -              | 100                | 0,69                                   |                                                                |
| 3               | 18                | 60              | 22             | 82                 | 0,73                                   |                                                                |
| 4               | 13,5              | 72,7            | 13,8           | 86,5               | 0,76                                   |                                                                |
| 5               | 22                | -               | -              | 78                 | 0,70                                   |                                                                |
| 6               | 16                | 59              | 20             | 79                 | 0,62                                   |                                                                |
| 7               | 3                 | 69              | 28             | 97                 | 0,60                                   |                                                                |
| 8               | 0                 | 62              | 38             | 100                | 0,52                                   |                                                                |
| 9               | 3                 | -               | -              | 97                 | 0,70                                   |                                                                |
| 10              | 18,5              | 58              | 23,5           | 91,5               | 0,77                                   |                                                                |
| 11              | 1,5               | 82              | 16,5           | 98,5               | 0,62                                   |                                                                |
| 12              | 15                | 59              | 26             | 85                 | 0,98                                   |                                                                |
| 13              | 24                | 50              | 26             | 76                 | 0,72                                   |                                                                |
| 14              | 5                 | 50              | 45             | 95                 | 0,89                                   |                                                                |
| 15              | 6                 | -               | -              | 94                 | 0,60                                   |                                                                |
| 16              | 21                | 52              | 27             | 79                 | 0,72                                   |                                                                |
| 17              | 20                | 59              | 21             | 80                 | 0,82                                   |                                                                |
| 18              | 0                 | 60              | 40             | 100                | 0,58                                   |                                                                |
| 19              | 10                | 72              | 18             | 90                 | 0,63                                   |                                                                |
| 20              | 11                | 66              | 23             | 89                 | 0,87                                   |                                                                |
| 21              | 24                | -               | -              | 76                 | 0,72                                   |                                                                |
| 22              | 2                 | -               | -              | 98                 | 0,68                                   |                                                                |
| M               | 10,61             | 61,5            | 27,17          | 89,39              | 0,70                                   |                                                                |
| Limites         | 0-24              | 50-82           | 13,8-47        | 76-100             | 0,58-0,98                              |                                                                |
| 23              | 10                | 72              | 18             | 90                 | 1,40                                   | Cirr. pigment.                                                 |
| 24              | 32                | 57,5            | 10,5           | 68                 | 0,72                                   | "                                                              |
| 25              | 23,7              | 53              | 23,3           | 76,3               | 1,21                                   | état précirr.                                                  |
| 26              | 24                | 50              | 26             | 76                 | 1                                      | "                                                              |
| 27              | 30                | -               | -              | 70                 | 1,62                                   | Cirr. métaict.                                                 |
| 28              | 12                | 65              | 23             | 88                 | 1                                      |                                                                |

On peut constater que les lipoprotéines alpha ont complètement disparu chez 4 malades sur 22, qu'elles sont réduites à moins de 10 % chez 7 autres malades. Quant au pourcentage des beta lipoprotéines du malade par rapport à celles du témoin, il est constamment inférieur à 1 dans la cirrhose banale.

Dans les 2 cas d'hémochromatose (23 et 24), on voit des résultats un peu discordants. Le cas 23 a un pourcentage de lipoprotéines alpha diminué, alors que le rapport des surfaces de ses beta lipoprotéines à celles du témoin est augmenté. Mais, bien entendu, si l'on peut accorder une valeur à ce rapport dans une étude statistique comme nous faisons pour les cirrhoses banales, on ne peut ici rien en conclure. Quant au cas 24, le pourcentage des lipoprotéines alpha y est normal et on note au contraire un abaissement de ses beta lipoprotéines par rapport à celles du témoin.

Dans 2 cas d'hépatomégalie sans ascite, on note une légère diminution des alpha lipoprotéines, mais qui ne dépasse pas les limites inférieures à la normale. Quant au rapport des surfaces des lipoprotéines beta avec celles du témoin, il est égal à 1 dans un cas, 1,20 dans l'autre.

Le schéma ci-dessous montre le pourcentage des alpha lipoprotéines dans la cirrhose comparé à celui de 30 sujets normaux. La ligne de séparation correspond à



sujets nx.

cirrhose

Sch. 12.

la valeur moyenne chez le sujet normal diminuée de la standard déviation. Ce graphique objective bien la diminution de ce pourcentage dans la cirrhose.

- Le dosage du cholestérol dans les zones répondant aux lipoprotéines montre une baisse de la proportion du cholestérol en alpha qui, de 20, passe à 10,2 en moyenne. Cette diminution est proportionnellement moins importante que celle des lipoprotéines alpha totales. Elles n'est en effet que de 49,5 % au lieu de 65 %.

Il faut noter ailleurs que là où le graphique obtenu par photométrie directe ne montre aucune onde lipoprotéinique en alpha, il y a toujours une quantité certes très faible mais pratiquement toujours dosable de cholestérol. Enfin, notamment dans le cas 1<sup>er</sup> et dans le cas 13, il y a une certaine discordance entre le pourcentage des lipoprotéines et celui du cholestérol. On peut aisément concevoir que, bien que dans l'ensemble les lipoprotéines semblent bien

se colorer par le noir Soudan et de façon à peu près proportionnelle dans les deux fractions, dans des cas pathologiques cette coloration puisse être parfois en défaut et que le dosage du cholestérol, plus précis, doive alors représenter une proportion plus exacte.

Dans un cas de cirrhose xanthomateuse, le dosage du cholestérol nous a montré que tout le cholestérol était en beta (8 g. par litre) et sur le trailing (lg./l.).

| Sujet | Alpha lipoprotéines | Beta lipoprotéines | Alpha cholestérol | Béta cholestérol |
|-------|---------------------|--------------------|-------------------|------------------|
|       | 30,3<br>± 5,7       | 69,7<br>± 5,7      | 20,6<br>± 3,2     | 75,7<br>± 3,2    |
| 1     | 0                   | 100                | 3                 | 97               |
| 2     | 22                  | 78                 | 23                | 74,4             |
| 3     | 0                   | 100                | 2                 | 95               |
| 4     | 2                   | 98                 | 3                 | 92               |
| 5     | 0                   | 100                | 6                 | 93,6             |
| 6     | 10                  | 90                 | 10,4              | 85,3             |
| 7     | 2                   | 98                 | 9,5               | 90,5             |
| 8     | 15                  | 85                 | 10                | 90               |
| 9     | 5                   | 95                 | 3                 | 93,6             |
| 10    | 6                   | 94                 | 18,8              | 91,2             |
| 11    | 32                  | 68                 | 20                | 76,1             |
| 12    | 21                  | 79                 | 20,4              | 79,6             |
| 13    | 24                  | 76                 | 13,1              | 85,8             |

#### 4- Le fractionnement glucidique -

Aucune étude, à notre connaissance, du glucidogramme dans la cirrhose n'a été publiée jusqu'à ce jour.

Le tableau ci-dessous indique le pourcentage des fractions glucido-protidiques dans 15 cas de cirrhose.

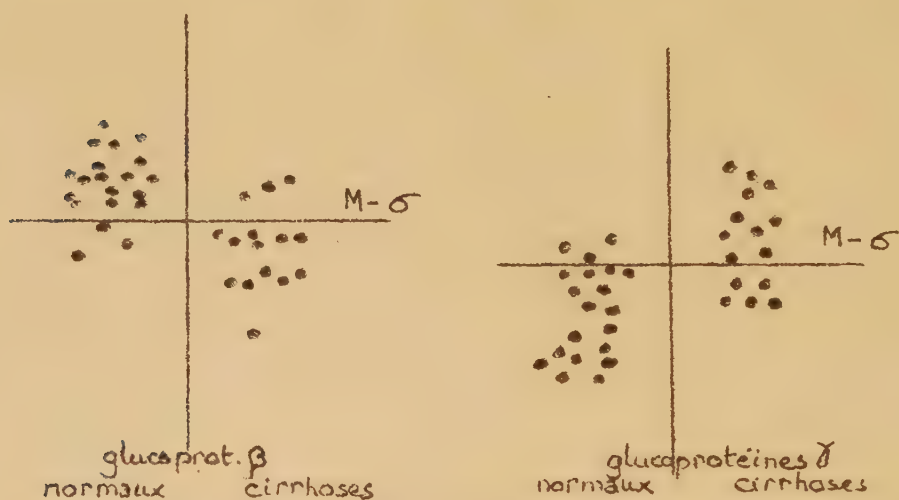
| N°           | A       | Alpha 1       | Alpha 2       | Beta          | Gamma         |
|--------------|---------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Sujet normal | 0 à 5 % | 21,2<br>± 4,9 | 28,3<br>± 4,2 | 33,1<br>± 4,3 | 17,3<br>± 5,9 |
| 1            | -       | 19,5          | 29,2          | 14            | 30            |
| 2            | 8,5     | 26,3          | 35,1          | 20,2          | 18,4          |
| 3            | -       | 20            | 36            | 25            | 19,1          |
| 4            | 9       | 23,6          | 31,5          | 26,0          | 18,7          |
| 5            | -       | 19,6          | 22,2          | 25,5          | 33,5          |
| 6            | -       | 12,5          | 25,5          | 33,5          | 28,5          |
| 7            | 2,5     | 16,3          | 25,4          | 34,7          | 23,6          |
| 8            | -       | 19            | 34            | 26            | 21            |
| 9            | -       | 12,5          | 41            | 25,4          | 21,1          |
| 10           | 11,2    | 19,8          | 25,0          | 20,6          | 34,6          |
| 11           | -       | 20            | 34,7          | 20            | 25,3          |
| 12           | -       | 18,5          | 24,7          | 25,8          | 36,5          |
| 13           | 12      | 21,9          | 24,5          | 26,4          | 27,2          |
| 14           | -       | 9             | 29,8          | 31,4          | 29,8          |
| 15           | -       | 20            | 23,3          | 21,6          | 35,1          |
| M            |         | 18,6          | 29,5          | 25,0          | 26,9          |
| limites      |         | 18,6          | 29,5          | 25,0          | 26,9          |

N.B.- Le pourcentage de l'albumine est calculé à part.

On peut constater sur ce tableau que la moyenne des alpha 1 et alpha 2 glucoprotéines est pratiquement normale (1). Par contre, il y a nettement une augmenta-

(1)- Nous avons connaissance au moment de l'impression d'un article du Professeur BENHAILOU (Presse Médicale, 1954, 62, p. 591). Ses conclusions sont identiques aux nôtres, sauf en ce qui concerne les glucoprotéines alpha 1 qu'il trouve régulièrement augmentées.

tion de la moyenne des gamma glucoprotéines et une diminution de celle des beta glucoprotéines . Cette modification des glucoprotéines beta et gamma est peut-être encore plus nette lorsqu'on compare directement sur les graphiques ci-dessous les pourcentages obtenus dans les 15 cirrhoses et ceux des 20 sujets témoins.



La ligne horizontale répond, pour les beta, à la moyenne diminuée de la standard déviation, pour les gamma à la moyenne augmentée de la standard déviation, ces deux lignes représentent les limites théoriques du sujet normal. On voit bien sur ces deux tableau que la majorité des pourcentages obtenus dans la cirrhose s'inscrit de l'autre côté de la ligne limite.

Commentaires -

Ainsi, nous avons montré que le sérogramme dans la cirrhose était caractérisé essentiellement par :

- l'augmentation considérable des globulines gamma et la baisse de l'albumine,
- la diminution des lipoprotéines alpha avec parallèlement une baisse du cholestérol en alpha,
- l'augmentation des glucoprotéines gamma et la diminution des glucoprotéines beta.

Quelle signification peut-on accorder à ces diverses modifications sériques ?

La baisse de l'albuminémie plasmatique est, sans conteste, due à un déficit de production du foie par suite de l'insuffisance cellulaire hépatique : le foie, écrivent CHIRAY et Ch. DEBRAY (16), est le producteur principal sinon exclusif de l'albumine plasmatique. La plus intéressante des anomalies sériques et la plus discutée dans sa signification est l'augmentation des gamma globulines. Certains auteurs invoquent la production plus facile de ces globulines pour compenser l'hypoalbuminémie (92). Pour WUHRMANN (135), il s'agirait d'une globuline hétérogène, qui ne serait pas le substratum d'anticorps.

En fait, on note dans la cirrhose une hyperplasie réticulo-endothéliale qui prédomine au niveau du foie.

FLIESSINGER insistait déjà sur l'évolution progressive des cirrhoses alors même que le malade avait renoncé à l'alcool ET, comme le signalait notre Maître le Professeur LEMAIRE (62) dans sa leçon inaugurale à l'Hôpital de la Pitié, ce fait rapproche la cirrhose des maladies auto-entretenuës. On peut donc admettre, avec KAUFMANN (50), que cette augmentation des globulines gamma est en rapport avec une production d'auto-anticorps, avec l'hyperplasie du système réticulo-endothélial.

La diminution des lipoprotéines alpha serait, elle, à rattacher à la lésion propre de la cellule hépatique, de même que la diminution du rapport des surfaces des beta lipoprotéines du malade à celles du témoin. POLONOVSKI (52) considère en effet, que les lipides liés aux fractions globuliniques beta et alpha 1 sont certainement d'origine hépatique.

Quant à l'hyperglucoprotéïnémie gamma, nous pensons qu'elle participe, comme l'hyperglobulinémie gamma, de l'existence d'auto-anticorps. La diminution des glucoprotéines beta est peut-être un phénomène compensateur de cet accroissement de la fraction gamma.

#### L'ascite dans la cirrhose -

Nous avons étudié comparativement au sérum l'ascite dans quelques cas de cirrhose. Nous avons trouvé que

l'ascite avait une formule protidique exactement semblable à celle du sérum du malade, conformément à ce que concluait MACHEBOEUF de la simple inspection des bandes (70).

L'ascite dans la cirrhose est donc toujours une ascite à grosse gamma globuline. Le tableau ci-dessous indique les résultats obtenus dans 5 cas de cirrhose.

L'ascite cirrhotique

|           | <u>A</u> | <u>Alpha 1</u> | <u>Alpha 2</u> | <u>Beta</u> | <u>Gamma</u> |
|-----------|----------|----------------|----------------|-------------|--------------|
| I sérum   | 33,5     | 7,2            | 8,3            | 13,5        | 37,5         |
| Ascite    | 34,7     | 7,5            | 7,7            | 12,1        | 38           |
| II Sérum  | 31,8     | 6,2            | 7,8            | 14,2        | 40           |
| Ascite    | 28       | 7,6            | 9,5            | 13,4        | 41,5         |
| III Sérum | 40       | 7,3            | 8,5            | 14,3        | 29,9         |
| Ascite    | 39,9     | 8              | 10,6           | 13,4        | 28,1         |
| IV Sérum  | 40       | 5,6            | 6,4            | 15,5        | 32,5         |
| Ascite    | 41,1     | 6,6            | 7,6            | 13,2        | 31,5         |
| V Sérum   | 33,6     | 4,3            | 9,3            | 18          | 34           |
| Ascite    | 31,5     | 5,6            | 9,2            | 17          | 36,7         |

Bien plus, ce qui, à notre connaissance n'a jamais encore été publié, l'ascite contient des lipoprotéines et des glucoprotéines. En étudiant sur une ligne de 7 centimètres 200 millimètres cubes d'ascite, on obtient une ascitogramme dont l'ensemble est, avec des colorations moins intenses, exactement comparable au sérogramme du malade. Pour les lipides, nous avons eu un résultat meilleur avec le rouge Soudan IV employé

selon la technique que nous indiquons plus haut. On voit nettement les lipides en beta avec le trailing habituel et la bande des lipoprotéines en alpha. Les glucoprotéines sont bien colorées et à peu près semblables à celles du malade

#### Rapports du sérogramme avec les tests de dysfonctionnement hépatique

Nous avons fait faire, dans tous nos cas de cirrhose, simultanément avec notre électrophorèse des bilans hépatiques comportant deux tests de floculation : Thymol-test et test de Hanger à la céphaline cholestérol, taux de prothrombine, étude du rapport sérine globuline par la méthode chimique, taux d'estérification du cholestérol.

Le test de Hanger est constamment positif dans tous les cas de cirrhose et semble, comme le signalent CHIRAY et Ch. DEBRAY (16), à peu près directement en rapport avec le taux des gamma globulines.

Par contre, l'étude du thymol-test ne nous a pas permis d'établir un rapport quelconque constant avec l'une des modifications sériques que nous a montrées l'électrophorèse. KAUTSCH et OSWALD (51) ont tenté de la rapprocher des gamma globulines, mais ces rapports en dehors des très fortes hyperglobulinémies sont loins d'être certains. RECENT & HANGER (96) ont montré que la délipidation négativait le thymol-test, que l'adjonction d'un

d'un sérum normal à ce sérum délipidé restaurait à la réaction au thymol son intensité première. D'autre part, la réaction au thymol pratiquée sur des gamma globulines séparées par électrophorèse de sérums positifs est négative. On sait, d'autre part, que la diminution de la sérum albumine n'est pas un facteur déterminant de la réaction puisque certains sérums très pauvres en albumine ne flocculent pas ; par contre, l'addition de sérum albumine à un sérum positif peut inhiber la réaction.

En définitive, le thymol-test paraît répondre à des modifications intimes de la structure des gamma ou des bêta globulines, ou des deux à la fois, que l'électrophorèse étudiant pourtant glucoprotéines et lipidoprotéines ne parvient pas à déceler.

Le taux de prothrombine est constamment abaissé dans les cirrhoses. A quoi correspond la prothrombine sur le sérogramme ? Ceci n'est pas défini de façon certaine. On sait que la prothrombine est une globuline très complexe (GILBRIN (31)) contenant 14,49 % d'azote, 4,3 de glucides, de la glucosamine.

Il s'agit d'une cénapse glucido-globulinique d'après FEISSLY (30) et la copule glucidique serait fonctionnellement très importante, ce serait un galacto-acétyl-glucosamino-mannose.

COHN, par précipitation, retrouve la prothrombine dans la fraction  $III_2$  qui contient essentiellement des

beta globulines.

Il nous semble qu'il est permis de se demander si l'abaissement de la beta glucoprotéine que nous notons sur notre sérogramme n'est pas un témoin de l'abaissement du taux de la prothrombine.

Enfin, le rapport sérine/globuline, chimiquement défini, est, on le sait, toujours supérieur à celui qui est obtenu par électrophorèse. En cela, nos conclusions sont les mêmes <sup>/que</sup> celles de STERLING et RICKETTS (115) qui notent, avec l'électrophorèse classique, un abaissement bien plus important que par la méthode classique. Dans l'ensemble, néanmoins, ces deux méthodes donnent des résultats relativement proportionnels.

En conclusion, le sérogramme électrophorétique dans la cirrhose montre :

- hypoalbuminémie et hyperglobulinémie gamma,
- hypolipidémie alpha,
- hyperglucoprotéinémie gamma et hypoglucoprotéinémie beta.

Dans 2 cas de cirrhose pigmentaire, nous notons, que l'hypoalbuminémie et l'hyperglobulinémie sont discrètes. De même, l'hypolipidémie alpha n'existe que dans un des deux cas et encore ne semble-t-elle que relative car la lipoprotéine beta est supérieure à celle du témoin.

Enfin, dans des états précirrhotiques, les modifications sont discrètes.

Un cas de syndrome de Banti montre une grosse hyperglobulinémie et une grosse hyperglucoprotéinémie gamma, une hypolipoprotéinémie alpha modérée avec un rapport de l'onde beta à celle du témoin égal à 1.

## II- LES ICTERES -

Notre étude a porté sur 18 cas d'ictère franc :

11 ictères par rétention

6 ictères épidémiques,

1 ictère hémolytique.

Avant d'entreprendre l'étude analytique du sérogramme dans l'ictère, nous voulons signaler une anomalie sérique constante dans l'ictère franc : c'est l'absence de lipoprotéine alpha. Mise à tort par certains auteurs sur le compte de l'ictère par rétention (KUNKEL & SLATTER (60)), par d'autres sur le compte de l'insuffisance hépatique grave (PASQUET (86)), cette disparition de la lipoprotéine alpha se rencontre dans tous les ictères francs : ictère par rétention, ictère par hépatite, ictère hémolytique.

1- Le fractionnement protidique -

Le tableau donne les résultats de nos 18 cas (page 143). On constate que les anomalies protidiques dans les ictères peuvent porter sur toutes les fractions.

Les anomalies des globulines beta -

GRAY & BARRON (39), qui ont, les premiers, étudié par l'électrophorèse classique 5 cas de calcul du cholédoque et 5 cas d'ictère par hépatite, notent une augmentation des beta globulines dans 2 cas d'hépatite, alors que le taux est normal ou inférieur dans les 3 autres cas. Quant aux ictères par rétention, le taux est normal dans 2 cas, légèrement augmenté dans 2 autres, très augmenté dans 1 cas. RICKETTS & STERLING (98) trouvent un taux plus ou moins élevé dans 7 cas sur 10 d'hépatite à virus, normal dans les 3 autres cas. BRANTE (13) a un taux à peine élevé dans 6 cas sur 18. BENHAMOU (6) affirme l'augmentation des globulines beta dans tous les ictères, sauf dans l'ictère hémolytique et note que le pic des beta est inférieur dans l'électrophorèse sur papier à ce qu'il est dans l'électrophorèse classique.

Nos résultats montrent qu'en fait cette augmentation de beta ne se rencontre que dans 2 cas sur 6 de nos hépatites à virus, encore est-elle très modérée. Par contre, nous la trouvons constamment dans l'ictère par rétention.



| No           | A %           | $\alpha 1$    | $\alpha 2$    | $\beta$       | $\gamma$      | A/G  | A %   | $\alpha 1$ | $\alpha 2$ | $\beta$ | $\gamma$ | DIAGNOSTIC                                 |
|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|------|-------|------------|------------|---------|----------|--------------------------------------------|
| Sujet normal | 56,3<br>± 3,1 | 5,4<br>± 0,75 | 8,4<br>± 0,95 | 13,3<br>± 0,8 | 16,6<br>± 1,6 |      | 45,06 | 4,3        | 6,72       | 10,64   | 13,28    |                                            |
| 1            | 38,5          | 8,8           | 14,8          | 17,2          | 21,2          | 0,62 | 30,8  | 7,04       | 11,2       | 13,76   | 16,9     | néo du foie                                |
| 2            | 40,6          | 7,1           | 13,6          | 20,6          | 17,8          | 0,68 | 33,28 | 5,68       | 11,04      | 16,48   | 14,24    | néo du foie                                |
| 3            | 43            | 8,8           | 11,6          | 16,5          | 20,6          | 0,75 | 30,53 | 6,24       | 8,23       | 11,71   | 14,2     | néo du pancréas                            |
| 4            | 50            | 7,6           | 17,8          | 18,2          | 12,6          | 1    | 37,50 | 5,7        | 8,77       | 13,65   | 9,45     | néo du pancréas                            |
| 5            | 50            | 6,2           | 10,8          | 20            | 13            | 1,54 | 40    | 4,96       | 8,64       | 16,47   | 10,4     | calcul du cholédoque                       |
| 6            | 35,8          | 9,1           | 10,1          | 18,2          | 32,7          | 0,53 | 28,14 | 7,31       | 8,04       | 14,47   | 25,72    | néo du pancréas                            |
| 7            | 34,8          | 8             | 10,1          | 22,2          | 24,7          | 0,53 |       |            |            |         |          | néo des voies biliaires hautes             |
| 8            | 40            | 8,4           | 12,6          | 18,4          | 20,6          | 0,67 | 29,40 | 6,17       | 9,26       | 13,52   | 15,14    | néo du pancréas                            |
| 9            | 39            | 7,9           | 13,7          | 17,4          | 22,4          | 0,66 | 32,17 | 6,51       | 11,30      | 14,02   | 18,8     | néo du foie                                |
| 10           | 41,5          | 8,8           | 13,2          | 17,8          | 18,7          | 0,70 |       |            |            |         |          | " "                                        |
| 11           | 42,1          | 7,2           | 10,4          | 17,2          | 23,1          | 0,72 | 35,99 | 6,15       | 8,89       | 14,70   | 19,75    | adénopathies péri-cholédoariennes+cirrhose |
| A            | 35,6          | 7,6           | 7,6           | 16,8          | 36,2          | 0,55 | 22,96 | 4,90       | 4,90       | 10,32   | 23,34    | ictère cat. prolongé                       |
| B            | 51,6          | 6,2           | 7,2           | 12,8          | 22,8          | 1,1  | 41,82 | 5,06       | 5,90       | 10,48   | 18,53    | ictère cat. transfusion.                   |
| C            | 53,6          | 7,8           | 9,8           | 16,4          | 14,5          | 1,77 | 41,34 | 5,46       | 7,02       | 12,48   | 10,92    | ictère cat. " "                            |
| D            | 46,6          | 7,1           | 8,5           | 14,7          | 22,1          | 0,87 |       |            |            |         |          | " "                                        |
| E            | 54            | 6,2           | 7             | 12            | 20,8          | 1,17 |       |            |            |         |          | ictère hémolytique                         |

• Protides

Les anomalies des gamma globulines -

GRAY & BARRON (loc. cit.) trouvent une augmentation constante des globulines gamma dans l'hépatite à virus, alors qu'elles seraient normales dans tous les cas d'ictère par calcul du cholédoque. RICKETTS & STERLING (loc. cit.) trouvent que cette anomalie manque dans 3 cas sur 10 d'ictère épidémique. Dans les cas de BRANTE (13), elle manque 7 fois sur 18 cas. Nous-même trouvons une élévation dans 5 cas sur 6. Le sixième (cas C), qui a fait cependant un ictère sérieux, n'a, à 3 examens successifs, jamais eu un taux supérieur à 14,5 %, ce qui est presque au-dessous de la normale. Il est intéressant de noter que bien qu'il n'y ait pas (en dehors de l'élévation de beta) de grosses altérations du protidogramme dans ce cas, le thymol-test et le test de Hanger étaient tous deux positifs. BRANTE (13) signale également un cas d'ictère à virus dans lequel il a vu toutes les réactions de floculation positives malgré une formule protéique normale.

Quant aux ictères par rétention, le taux en est variable, souvent légèrement supérieur à la normale ; il atteint, dans des ictères durant depuis plusieurs semaines, des taux élevés jusqu'à 32 % dans les cas 6, 24,7 % dans le cas 7.

Les anomalies des globulines alpha -

Nous trouvons un taux de globulines alpha, surtout alpha 2, augmenté dans tous nos ictères par rétention, particulièrement ceux dont l'origine est néoplasique et tout spécialement par cancer du foie, alors que le taux des globulines alpha 2 est pratiquement normal dans nos 6 cas d'hépatite épidémique. Cependant, RICKETTS et STERLING ont trouvé des alpha 2 élevées dans 2 cas d'ictère à virus. KNEDEL (55) signale également une certaine élévation au premier stade de l'ictère à virus. WUHRMANN (135) fait, du taux normal des globulines alpha contrastant avec l'élévation des gamma, un signe important de l'hépatite épidémique. BRANTE trouve un taux d'alpha pratiquement toujours normal.

L'hypoalbuminémie -

L'hypoalbuminémie proportionnelle et pondérale se retrouve dans les 10 cas d'hépatite de RICKETTS et STERLING. Elle manque par contre dans 2 cas de GRAY et BARRON. La proportion de l'albumine est abaissée nettement dans 3 de nos cas, subnormale dans les 3 autres. Il en est de même du point de vue pondéral (l'hypoalbuminémie n'est vraiment importante que dans 9 cas de BRANTE sur 18, subnormale dans les autres).

Mais il serait très exagéré d'en faire un symp-

tôme important de l'hépatite épidémique, car il se retrouve à peu près avec la même proportion dans nos cas d'ictère par rétention.

Ainsi, si typiquement le syndrome ictère par rétention égale grosse beta globuline, albumine et gamma globuline normales, le syndrome hépatite épidémique grosse gamma, hypoalbuminémie, nous voyons que ceci est très inconstant et qu'une anomalie modérée ne peut en tout cas aucunement amener à une conclusion diagnostique. De plus d'intérêt cependant nous paraît l'appréciation des globulines alpha qui, pour nous, comme pour WUHRMANN et BRANTE, sont, surtout la fraction alpha 2, toujours normales dans l'ictère par hépatite, alors qu'elles sont fréquemment perturbées dans l'ictère par rétention, quelle que soit son origine.

De plus, ici comme pour toutes les épreuves fonctionnelles hépatiques, on voit l'importance d'un examen précoce, car lorsque l'électrophorèse est pratiquée tardivement, les globulines gamma s'élèvent dans l'ictère par rétention.

Quand à notre cas d'ictère hémolytique, son protidogramme est pratiquement normal avec seulement une légère élévation des gamma à la limite de la normale.

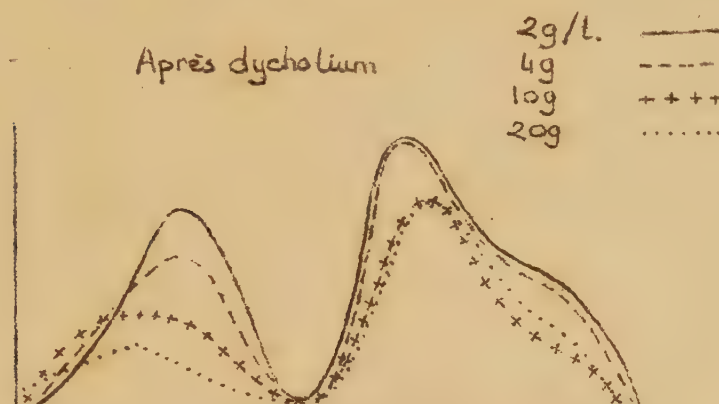
2- Le fractionnement lipidique n'a guère d'autre intérêt dans

l'ictère que de montrer, comme nous le disions plus haut, la disparition constante de l'alpha lipoprotéine dans tout ictère franc quelle que soit son origine. (tableau p.149) Elle s'accompagne d'une absence quasi totale du cholestérol dans la zone alpha 1 et albumine.

Cette suppression des alpha lipoprotéines généralisée à tous les ictères nous a fait penser qu'il ne s'agissait probablement pas là d'un signe d'insuffisance hépatique. Faut-il admettre que la rétention biliaire entraîne une inhibition de la cellule hépatique qui serait strictement limitée à l'élaboration des lipoprotéines alpha ? Ceci paraît peu probable. Nous nous sommes demandé si l'un des produits passant dans la circulation générale du fait de l'ictère, qu'il soit par hépatite ou par rétention, n'était pas capable de modifier les cénapses lipido-protidiques et d'aboutir à la disparition des cénapses en alpha. Nous avons cherché à reproduire ce phénomène in vitro au moyen des deux produits principaux de la rétention biliaire, bilirubine et sels biliaires

La bilirubine ne nous a pas donné de modifications importantes en dehors peut-être d'une légère augmentation de la mobilité des fractions protidiques dans leur ensemble.

Les sels biliaires, par contre, nous ont donné un résultat intéressant. Nous avons, dans nos expériences utilisé du déhydrocholate de soude. L'addition à doses progressivement croissantes de dychohium à du sérum entraîne une modification profonde des lipoprotéines alpha sur le sérogramme.



On constate une diminution progressive de l'intensité de leur coloration, un étalement de l'onde alpha, enfin une disparition presque complète de cette onde alors que les betas semblent <sup>/peu</sup> modifiées. Certes, pour obtenir un tel résultat, il faut ajouter des doses de déhydrocholate de soude dépassant très largement l'augmentation de la cholalémie dans les ictères.

On obtient une quasi disparition de l'onde alpha pour des doses de l'ordre de 20 grammes par litre. Nous avons étudié in vivo chez un malade le sérogramme avant et un quart d'heure après injection intraveineuse de 4 g. de dychohium. Ceci ne nous a pas donné de résultat concluant. Peut-être une grande partie du dychohium n'était-elle plus

Lipides

|                   | Lipoprotéines<br>alpha | Onde beta | Trailing | Lipoprotéines<br>beta |
|-------------------|------------------------|-----------|----------|-----------------------|
| Sujets<br>normaux | 30,3<br>± 5,7          |           |          | 69,7<br>± 3,7         |
| 1                 | 0                      | 83        | 17       | 100                   |
| 2                 | 0                      | 64,3      | 35,7     | 100                   |
| 3                 | 0                      | 75        | 25       | 100                   |
| 4                 | α lente 3              | 72        | 25       | 97                    |
| 5                 | 0                      | 75        | 26       | 100                   |
| 6                 | α lente 2,3            | 77        | 20,7     | 97,7                  |
| 7                 | 0                      | 86        | 14       | 100                   |
| 8                 | -                      | -         | -        | -                     |
| 9                 | 0                      | 80        | 20       | 100                   |
| 10                | -                      | -         | -        | -                     |
| 11                | 0                      | 70        | 30       | 100                   |
| A                 | 0 α lente 1,6          | -         | -        | 98,4                  |
| B                 | 0                      | 81        | 19       | 81                    |
| C                 | 0                      | -         | -        | 100                   |
| D                 | -                      | -         | -        | -                     |
| E                 | 0                      | 70        | 30       | 100                   |
| X                 | 0                      | -         | -        | 100                   |

déjà dans la circulation ? De toute façon, les sels biliaires sont multiples et peut-être l'organisme fabrique-t-il /des sels dont l'action sur les lipoprotéines alpha est plus intense que celle du déhydrocholate de soude. Néanmoins, ces expériences nous paraissent d'un certain intérêt et éclairer d'un jour nouveau ce problème de la disparition des alpha lipoprotéines sur le sérogramme dans les ictères.

On sait d'ailleurs que l'action des sels biliaires sur les cénapses lipidoprotidiques est importante. TAYEAU (121), ajoutant du cholalate de sodium à du sérum, a montré qu'il avait la propriété de décoller le cholestérol fixé aux protéines. Etudiant alors le système lipidoprotidique du sérum sanguin dans l'ictère par rétention (122), il s'est aperçu qu'en agitant du sérum d'ictérique avec de l'éther, au lieu d'avoir quelques traces de cholestérol dans l'éther comme cela se produit avec un sérum normal, il y avait une abondante quantité de cholestérol et des phosphatides dissous dans la phase étherée. Dans certains sérums particulièrement riches en sels biliaires, TAYEAU a pu même, en renouvelant l'éther un certain nombre de fois extraire directement la presque totalité des phosphatides et du cholestérol.

Quoiqu'il en soit, l'action des sels biliaires ne peut expliquer la disparition de l'onde alpha également dans l'ictère hémolytique. Il est vrai que nous n'en rapportons qu'un seul cas, qu'il s'agissait peut-être d'un ictère additionné (lors de la splénectomie, on a trouvé quelques calculs dans sa vésicule). Il serait intéressant,

et nous nous proposons de la faire ultérieurement, d'étudier un certain nombre d'ictères hémolytiques pour voir si les lipoprotéines alpha manquent vraiment.

En dehors de cette disparition des alpha lipoprotéines, on peut constater que l'onde beta migre en général plus que normalement, son pic venant sur le même plan ou un peu en avant de celui des beta globulines.

Nous avons étudié en outre le rapport des surfaces entre les beta lipoprotéines des ictériques et celles du témoin migré sur la même bande et coloré simultanément. Il est intéressant de noter que ce rapport est toujours supérieur à 1 dans les ictères par rétention et dans les calcul du cholédoque sans ictère, alors qu'il est égal ou inférieur à 1 dans 4 cas d'hépatite épidémique. Ceci n'est d'ailleurs que la traduction de l'hyperlipidémie des ictères par rétention. Néanmoins, dans les cas A, B et C la lipémie était loin d'être abaissée puisqu'elle atteignait respectivement 7,50, 11 g. et 9,50.

Rapport des surfaces  $\beta M / \beta T$

|    |      |
|----|------|
| 1  | 2,05 |
| 2  | 1,8  |
| 3  | 1,2  |
| 4  | 1,3  |
| 5  | 1,04 |
| 6  | 1,41 |
| 7  | 1,15 |
| 8  | -    |
| 9  | 1,43 |
| 10 | -    |
| 11 | 1,16 |
| A  | 0,9  |
| B  | 0,98 |
| C  | 0,98 |
| D  | 1    |
| E  | -    |

Quant au dosage du cholestérol dans les fractions protidiques, il vérifie l'absence quasi totale de lipides en alpha 1 et albumine. Il y a cependant, ici encore, de petites quantités nettement supérieures à la normale ; ceci est dû sans doute à la migration accentuée des lipoprotéines beta qui débordent sur alpha 2.

Fractionnement glucidique.-

L'étude du fractionnement glucidique dans l'ictère n'est pas sans intérêt. Il montre une augmentation globale des glucoprotéines, constante en beta, alpha 2 et alpha 1, tant dans les ictères par rétention que dans les ictères à virus. Cependant, si l'on compare la surface totale de ces trois ondes chez le malade et chez le sujet témoin dont l'électrophorèse a été faite sur la même bande

et la coloration simultanée, on constate que l'augmentation de ces ondes est en général largement supérieure dans nos cas d'ictère par rétention (cas 1 à 11) à ce qu'elle est dans les ictères à virus (cas A-E).

Rapport des surfaces totales de beta, alpha 2  
alpha 1 à celles du témoin. (glucoprotéines)

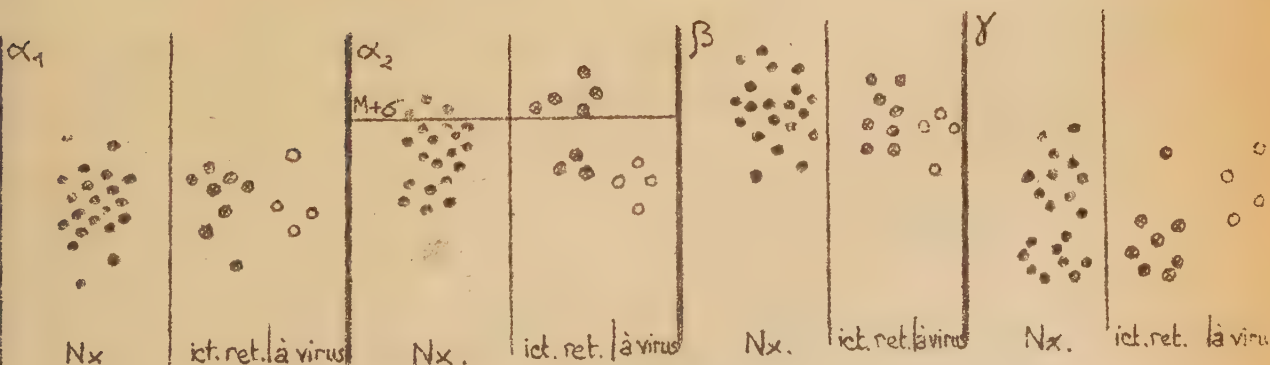
|    |      |
|----|------|
| 1  | 2,55 |
| 2  | 1,7  |
| 3  | -    |
| 4  | 2,1  |
| 5  | 1,87 |
| 6  | 2,5  |
| 7  | 1,22 |
| 8  | -    |
| 9  | 2,3  |
| 10 | -    |
| 11 | 1,3  |
| A  | 1,03 |
| B  | 1,2  |
| C  | 1,2  |
| D  | -    |
| E  | 0,9  |

Bien entendu, il y a des cas limites où un ictère rétionnel a une augmentation modérée. Il doit y avoir également des cas d'hépatite avec élévation importante de ces trois ondes. C'est d'ailleurs là un rapport qui n'a qu'une valeur statistique, bien difficile à appliquer à des cas particuliers, surtout lorsque l'augmentation est seulement de 20 à 30 %. Néanmoins, l'aspect de la bande glucoprotéinique d'un ictère par rétention est, dans les cas typiques, tout à fait particulier du fait de cette majoration simultanée de l'intensité du colorant sur les

trois ondes beta, alpha 2 et alpha 1, et nous n'avons rencontré, au cours de nos expériences, un tel aspect nulle part ailleurs.

Lorsqu'on étudie le pourcentage des fractions glucoprotéiques entre elles, on constate, comme le montrent le tableau et le graphique ci-dessous, qu'il n'y a pas d'anomalie de la proportion des glucoprotéines alpha et beta dans les ictères.

En alpha 2, on note seulement que 5 des 8 ictères par rétention ont un taux supérieur à la normale. Deux ont un cancer du foie secondaire (estomac, rectum), deux un cancer des voies biliaires, un un cancer du pancréas. Aucun des 4 cas d'ictères par hépatite n'a d'anomalie d'alpha 2.



Glucoprotéines dans l'ictère

| <u>N°</u>    | <u>Alpha 1</u> | <u>Alpha 2</u> | <u>Beta</u>   | <u>Gamma</u>  |                             |
|--------------|----------------|----------------|---------------|---------------|-----------------------------|
| Sujet normal | 21,2<br>± 4,95 | 28,3<br>± 4,2  | 33,1<br>± 4,3 | 17,3<br>± 5,9 |                             |
| 1            | 23,0           | 34,9           | 30            | 12,1          | ictères<br>par<br>rétention |
| 2            | 17             | 39,7           | 32            | 11,3          |                             |
| 3            | -              | -              | -             | -             |                             |
| 4            | 13             | 33,9           | 36            | 17,1          |                             |
| 5            | 25,5           | 26,3           | 33,4          | 15            |                             |
| 6            | 23,1           | 25,7           | 36,5          | 14,7          |                             |
| 7            | 23,2           | 34             | 26,6          | 16,2          |                             |
| 8            | -              | -              | -             | -             |                             |
| 9            | 24             | 35,5           | 29            | 12,5          |                             |
| 10           | -              | -              | -             | -             |                             |
| 11           | 20             | 27,4           | 27            | 25,6          |                             |
| A            | 27,5           | 23,5           | 24,5          | 24,5          | ictères<br>à<br>virus       |
| B            | 20             | 21             | 31,3          | 18,4          |                             |
| C            | 17,5           | 26,6           | 33,3          | 20,8          |                             |
| D            | -              | -              | -             | -             |                             |
| E            | 19,5           | 24,3           | 30,4          | 26,8          |                             |

En gamma, les autres ictères par rétention ont proportionnellement un taux bas, bien que dans les limites de la normale. Le seul cas élevé est un ictère dû à des adénopathies péricholédociennes et associé à une cirrhose vérifiée histologiquement qui explique cette différence des autres ictères.

Les ictères par hépatite sont, au contraire, dans la partie supérieure de la normale.

Enfin, sans pouvoir en tirer de conclusion, étant donné que nous ne le rencontrons avec certitude que dans 3 cas sur 4, nous avons trouvé une onde anormalement

importante de glucoprotéines liées aux albumines dans l'ictère à virus, représentant respectivement 6 %, 9,4 %, 20 % de la surface totale.

Ainsi le sérogramme dans les ictères montre :

= Dans tous les ictères, une disparition des alpha lipoprotéines qui doit pouvoir, à notre avis, être rattachée au moins en partie à la rétention des sels biliaires.

= Dans les ictères par rétention ;

- hyperglobulinémie beta nette, hyperglobulinémie alpha 2 ;

- augmentation de beta lipoprotéines évaluée par rapport aux lipoprotéines d'un témoin migré sur la même bande et développé simultanément ;

- augmentation globale, souvent très importante, des fractions beta, alpha 1 et 2 du glucido-gramme avec :

un pourcentage d'alpha 2 supérieur à la normale dans 5 cas /8

un pourcentage de gamma glucoprotéines faible, à la limite inférieure de la normale.

= Dans les ictères à virus :

- hyperglobulinémie gamma contrastant avec des globulines alpha normales ; cependant, cette hyperglobulinémie gamma manque dans 1 cas ; hypoalbuminémie nette dans 50 % des cas seulement :

- des beta lipoprotéines apparemment normales par rapport à celles du témoin ;

- des glucoprotéines moins fortement augmentées dans leur ensemble que dans l'ictère par rétention, avec des alpha normales.

Les gamma sont à la limite supérieure de la normale.

On constate dans 3 cas sur 4 une onde glucoproti-

dique anormalement élevée répondant aux albumines.

EVOLUTION DES ICTERES

|         |      |    | A    | Alpha1 | Alpha2 | Beta | Gamma |                                    |
|---------|------|----|------|--------|--------|------|-------|------------------------------------|
| Cas I   | jour | 0  | 35,6 | 7,6    | 7,6    | 16   | 36,2  | ictère catarrhal prolongé          |
|         | .... | 85 | 39,5 | 7,6    | 7,6    | 12   | 33,3  | guérison clinique presque complète |
| Cas II  | jour | 0  | 51   | 6,2    | 7,2    | 12,8 | 22,8  | ictère transfus.                   |
|         | .... | 25 | 40,5 | 6,1    | 11,8   | 18,9 | 22,7  | guérison clinique                  |
| Cas III | jour | 0  | 53,5 | 7      | 9      | 16   | 14,5  | ictère catarrhal                   |
|         |      | 15 | 53,5 | 7,8    | 8,3    | 14,9 | 14,8  |                                    |
|         |      | 40 | 50,4 | 8,5    | 12,6   | 16,5 | 12    | guérison clinique                  |

Dans l'ictère par hépatite, cette évolution a été particulièrement bien étudiée au point de vue protidique par RICKETTS & STERLING (98) et par ZOLLNER (137).

ZOLLNER signale, à la période initiale, une augmentation des beta globulines et une diminution des alpha globulines qui durent pendant 2 semaines et laissent ensuite place à l'hyperglobulinémie gamma qui s'est accentuée progressivement pour atteindre son maximum à la fin de la troisième semaine et décroît ensuite très lentement.

RICKETTS & STERLING, étudiant d'anciens ictériques entre 10 et 36 mois après la maladie, trouvent des anomalies sériques résiduelles dans 8 cas sur 11. Elles consistent essentiellement en une élévation des gamma globulines dans 6 cas, une élévation modérée des beta dans 3 cas, une légère hypoalbuminémie pondérale dans 3 cas.

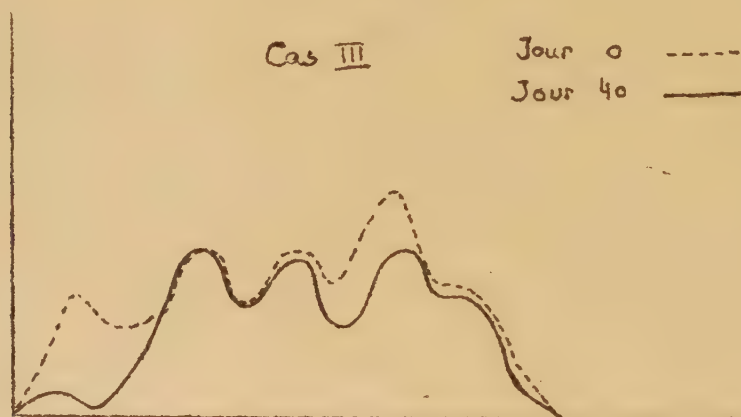
Pour notre part, nous avons suivi 3 ictères durant respectivement 85, 25 et 40 jours, c'est-à-dire jusqu'à leur guérison clinique. Le tableau ci-dessus donne leur fractions protidiques durant cette période. On peut constater que la guérison clinique est loin d'être accompagnée d'une guérison sérologique.

De plus, dans le cas 2, on note une élévation importante des beta globulines lors de la guérison clinique. Il est curieux de le rapprocher d'un cas d'ictère transfusionnel prolongé de RICKETTS et STERLING où, au 290<sup>e</sup> jour il est vrai, les beta, normales au début, s'étaient élevées à 18 % (normale 12,8).

Par contre, les lipoprotéines alpha réapparaissent très rapidement et, au moment de la guérison clinique, atteignent un taux subnormal :

|         |        |        |
|---------|--------|--------|
| Cas I   | Jour 0 | 1,6 %  |
|         | - 85   | 23,5 % |
| Cas II  | - 0    | 0 %    |
|         | - 25   | 14,3 % |
| Cas III | - 0    | 0 %    |
|         | - 40   | 19 %   |

Quant aux glucoprotéines, nous avons constaté dans le cas III une disparition de l'onde anormale en albumine visible au jour 0. Ceci nécessitera la poursuite de cette étude sur un certain nombre d'ictères à virus avant de pouvoir en tirer une conclusion.



Dans l'ictère par rétention, BENHAMOU (5) signale la décapitation des globulines beta au lendemain du rétablissement du flux biliaire. Nous trouvons des résultats dans l'ensemble conformes à cette conclusion. Mais les alpha lipoprotéines mettent un certain temps à réapparaître et ne réapparaissent que très progressivement.

Ainsi, dans 2 cas, au troisième jour après l'intervention, les lipoprotéines alpha sont toujours absentes. Dans un autre cas, au 6ème jour, elles commencent à apparaître, passant de 0 à 12 %. Il semble, et ceci est encore à rapprocher de ce que nous disions plus haut, que, aussi longtemps que le sérum est franchement ictérique, il n'y a pas réapparition des alpha lipoprotéines. Leur date

de réapparition est donc fonction de celle de l'atténuation de l'ictère.

Quant aux glucoprotéines, l'onde beta semble s'atténuer assez rapidement et parallèlement à celle des globulines, mais l'onde alpha 2 semble persister plus longtemps.

En conclusion, l'évolution de l'ictère à virus montre la persistance d'anomalies sériques indiscutables dans les fractions protidiques longtemps après la disparition de l'ictère. Par contre, les lipoprotéines alpha réapparaissent rapidement lors de la guérison clinique. La fraction glucoprotéine en albumine semble également disparaître précocement.

L'évolution de l'ictère par rétention montre une décapitation rapide des globulines beta après intervention. Mais les lipoprotéines alpha ne réapparaissent pas avant une atténuation nette de l'ictère.

### III- LE SEROGRAMME DANS LA CHOLECYSTITE LITHIASIQUE -

Nous avons étudié, en dehors des cas d'ictère par rétention, 5 cas de cholécystite lithiasique avec calcul du cholédoque dont 4 avaient eu un subictère, 1 seulement des manifestations douloureuses sans ictère.

La bande protidique nous a montré les résultats suivants :

| N°      | Alb.  | Alpha 1 | Alpha 2 | Béta  | Gamma |                        |
|---------|-------|---------|---------|-------|-------|------------------------|
| 1       | 54    | 5,3     | 9,3     | 15,3  | 19    | subictère léger        |
| 2       | 50,8  | 7,6     | 11      | 14,2  | 16,4  | - disparu lors d'ex.   |
| 3       | 43,2  | 8,2     | 13,4    | 13    | 22,2  | d°                     |
| 4       | 54,6  | 6,3     | 9       | 11,4  | 18,7  | pas d'ictère           |
| 5       | 50,1  | 7,7     | 10,8    | 14    | 17,4  | sub.disparu lors d'ex. |
| M       | 50,5  | 7       | 10,7    | 13,6  | 18,7  |                        |
| Normale | 56,3  | 5,4     | 8,4     | 13,3  | 16,6  |                        |
|         | ± 3,1 | ± 0,75  | ± 0,95  | ± 0,8 | ± 1,6 |                        |

On ne constate pas d'anomalie importante, comme on pouvait d'ailleurs s'y attendre. Simplement une albumine à la limite inférieure de la normale, une globuline gamma légèrement supérieure surtout dans le cas 3, doivent témoigner d'un très léger déficit. Quant à l'onde béta, elle est normale dans le calcul du cholédoque non ictérique.

Ces conclusions sont en accord avec celles de BRANTE (13) qui trouve, sur 10 cas, des protides normaux, sauf dans

1 cas où il a, comme dans notre cas 3, une hypoalbuminémie avec hyperglobulinémie de toutes les fractions.

Les lipides nous ont donné les résultats suivants pour le pourcentage des lipoprotéines alpha :

Taux normal                      30,3 %  $\pm$  5,7

|   |        |
|---|--------|
| 1 | 11, %  |
| 2 | 32,5 % |
| 3 | 13, %  |
| 4 | 24,5 % |
| 5 | 18,6 % |

On voit que chez 3 sur 4 des malades qui avaient eu du subictère, ou avaient encore un subictère léger, le pourcentage des alpha lipoprotéines est abaissé.

Le dosage du cholestérol dans les fractions nous montre :

|         | Alpha lipo-<br>protéines | Alpha 2 | Beta lipo-<br>protéines |
|---------|--------------------------|---------|-------------------------|
| Normale | 20,6 $\pm$ 3,2           | 1 à 5   | 75,7 $\pm$ 3,2          |
| 1       | -                        | -       | -                       |
| 2       | 9,6                      | 0       | 90,4                    |
| 3       | 10,3                     | 2,1     | 87,6                    |
| 4       | 26,4                     | 3,9     | 69,7                    |
| 5       | 20,7                     | 0       | 79,3                    |

Quant au glucidogramme, il est normal dans tous les cas. Ainsi, on peut constater que le calcul du cholestérol, en dehors d'une phase ictérique, ne se traduit par aucune modification du sérogramme, comme on pouvait d'ailleurs s'y attendre, si ce n'est une albuminémie un peu faible, une globuline gamma un peu forte.

Quant aux modifications des lipoprotéines, elles sont plutôt en rapport avec le subictère présent ou immédiatement antérieur.

#### IV- LE SEROGRAMME DANS LE CANCER DU FOIE -

Dans nos 5 cas de cancer du foie, 4 avaient un ictère, le cinquième est anictérique. Il semble qu'il s'agisse d'un cancer primitif.

Les protéides dans ces 5 cas se répartissent de la façon suivante :

|                        |         | <u>Alb.</u>   | <u>Alpha 1</u> | <u>Alpha 2</u> | <u>Beta</u>   | <u>Gamma</u>  |             |
|------------------------|---------|---------------|----------------|----------------|---------------|---------------|-------------|
|                        | Normale | 56,3<br>± 3,1 | 5,4<br>± 0,75  | 8,4<br>± 0,95  | 13,3<br>± 0,8 | 16,6<br>± 1,6 |             |
| Secondaire à K. rectum | 1       | 38,5          | 8,8            | 14             | 17,2          | 21,2          | ict.        |
| - K. estomac           | 2       | 40,6          | 7,1            | 13,8           | 20,6          | 17,8          | -           |
| - K. estomac           | 3       | 39            | 7,9            | 13,7           | 17            | 22,4          | -           |
| Voies biliaires        | 4       | 41,5          | 8,8            | 13,2           | 17,8          | 18,7          | -           |
| Apparemment primitif   | 5       | 43,3          | 7,2            | 13,9           | 13,3          | 22,3          | non<br>ict. |

On peut constater dans tous les cas une hypoalbuminémie assez marquée, une augmentation des alpha 2 constante, une augmentation plus ou moins nette des gamma globulines.

GRAY & BARRON (39) qui ont publié 7 cas de cancer secondaire trouvent, comme nous, hypoalbuminémie et hyperglobulinémie gamma. Il en est de même de BRANTE (13) dans 7 cas. ZOLLNER (137) publie 3 cas de cancer primitif. Les globulines alpha sont augmentées dans 1 seul cas. Elles ne sont jamais augmentées chez GRAY et BARRON, nettement élevées par contre dans 4 cas sur 7 chez BRANTE.

Quant à l'augmentation des beta que l'on peut voir

dans les 4 premiers cas, elle est naturellement en rapport avec l'ictère.

La bande lipidique montre, bien entendu, dans les 4 cas d'ictère, la disparition des alpha lipoprotéines. Le cas non ictérique a un taux abaissé à 13 %.

Quant au fractionnement glucidique, il montre l'augmentation globale considérable des glucoprotéines déjà signalée lors des cas s'accompagnant d'ictère. La seule différence dans le cas anictérique est la moindre coloration de l'onde beta. L'onde alpha 2 est, dans tous les cas, monstrueuse.

---

### III/- LE SÉROGRAMME DANS L'ULCUS GASTRIQUE -

Le sérogramme dans l'ulcère de l'estomac en cours de poussée ne montre pas de modification notable, comme nous l'avons vérifié dans 5 cas :

|         | <u>Protides</u> |                |                |             |              |
|---------|-----------------|----------------|----------------|-------------|--------------|
|         | <u>Alb.</u>     | <u>Alpha 1</u> | <u>Alpha 2</u> | <u>Beta</u> | <u>Gamma</u> |
| Normale | 56,3 ±3,1       | 5,4 ±0,75      | 8,4 ±0,95      | 13,3 ±0,8   | 16,6 ±1,6    |
| 1       | 50,8            | 5,1            | 9,5            | 16,3        | 18,5         |
| 2       | 54,5            | 6              | 9              | 13,5        | 17           |
| 3       | 57              | 6,5            | 7,2            | 13,5        | 15,8         |
| 4       | 54,7            | 5,1            | 9              | 13,4        | 18,2         |
| 5       | 60,7            | 5,3            | 7,4            | 12,7        | 13,9         |

#### Lipides

Pourcentage des lipoprotéines alpha

|         |      |       |
|---------|------|-------|
| Normale | 30,3 | ± 5,7 |
| 1       | 24,3 |       |
| 2       | 20   |       |
| 3       | 21,8 |       |
| 4       | 37,8 |       |
| 5       | 17,4 |       |

Les lipoprotéines alpha sont un peu basses dans l'ensemble, sauf dans le cas 4.

Le dosage du cholestérol montre, dans 3 cas, une diminution parallèle en alpha.

Quant au glucidogramme, il est normal dans tous les cas.

#### IV/- LE SEROGRAMME CHEZ LES GASTRECTOMISES -

Nous avons étudié le sérogramme dans 2 cas de carence chez des gastrectomisés <sup>(1)</sup> pour l'ulcus gastrique et nous en avons rapproché 4 cas de gastrectomie hospitalisés pour des troubles digestifs variables et chez lesquels on ne décelait cliniquement aucun signe de carence.

##### Fractionnement protidique -

|         | <u>Albumine</u> | <u>Alpha 1</u> | <u>Alpha 2</u> | <u>Beta</u> | <u>Gamma</u> |
|---------|-----------------|----------------|----------------|-------------|--------------|
| Normale | 56,3 ±3,1       | 5,4 ±0,75      | 8,4 ±0,95      | 13,3 ±0,8   | 16,6 ±1,6    |
| I       | 40              | 5,8            | 8,2            | 16,6        | 29,4         |
| II      | 38              | 8,5            | 7,6            | 11,2        | 34,7         |
| 1       | 47,7            | 8,6            | 10,1           | 13,6        | 20           |
| 2       | 45,8            | 8,5            | 11,5           | 14,3        | 19,2         |
| 3       | 50,6            | 6              | 8,6            | 14,7        | 20,1         |
| 4       | 49              | 7,1            | 10,4           | 13,7        | 20           |

On peut constater que dans nos 2 cas de carence, il y a une hypoalbuminurie nette, et une hyperglobulinémie gamma les malades gastrectomisés et chez lesquels on ne décelait aucune carence montrent cependant une hypoalbuminémie nette et dans tous les cas une hyperglobulinémie gamma.

##### Lipidoprotéines -

Le pourcentage des alpha lipoprotéines s'établit comme suit :

---

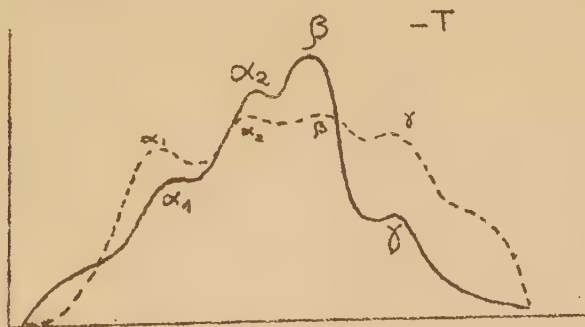
(1)- Nous remercions le Dr HARTMAN a qui nous sommes redevables de ces 2 cas.

|         |            |
|---------|------------|
| Normale | 30,3 ± 5,7 |
| I       | 14,7       |
| II      | 24,1       |
| 1       | 16,2       |
| 2       | 13,2       |
| 3       | 25,1       |
| 4       | 23,7       |

Il est donc, pour les syndromes de carence, comme pour les gastrectomisés non carencés en apparence, abaissé dans tous les cas.

Quant au glucidogramme, il est très perturbé et son aspect rappelle exactement celui des cirrhoses. Le:

schéma: ci-dessous montre: bien l'augmentation importante des gamma et le glucidogramme jusqu'aux alpha 1 constitue une ligne à peine marquée des sommets de gamma, beta et alpha 2 qui sont confondus en une tache colorée presque continue.



Ainsi, nous constatons qu'en dehors des anomalies importantes des syndromes de carence des gastrectomisés, il existe chez des gastrectomisés sans carence cliniquement appréciable (mais qui sont hospitalisés pour troubles algiques vagues abdominaux) des anomalies mineures, mais présentes dans tous nos cas.

---



## CONCLUSIONS

---

### I - LE SÉROGRAMME ÉLECTROPHORÉTIQUE -

1/- L'électrophorèse sur papier permet, grâce à 3 ou 4 colorants utilisés en histologie, d'obtenir facilement un tableau complet des fractions protidiques, lipidiques et glucidiques du sérum, en un mot un sérogramme dont l'intérêt dans la clinique médicale courante est considérable.

2/- L'appareil de DURRUM modifié par HACHEBOEUF et REBEYROTTE nous paraît le meilleur :

- par la rapidité de l'électrophorèse (5 heures)
- par la bonne séparation des éléments malgré une migration modérée donnant des fractions lipidiques excellentes,

- par les dimensions de la cuve : l'emploi de bandes de papier larges de 18 cm. nous permet d'obtenir sur la même bande le sérogramme du malade et d'un témoin.

3/- La coloration des protides par l'Amido-Schwarz de GRASSMANN et HANNIG donne de bons résultats. La lecture photométrique directe nous paraît difficilement utilisable pour une étude quantitative. L'élution par la

soude decinormale nous a donné, pour le sujet normal, des résultats constants, parfaitement reproductibles pour un même sujet, peu variables d'un sujet à l'autre :

Albumine : 56,3 % - Alpha 1 : 5,4 % - Alpha 2 : 8,4 % -  
béta : 13,3 % - Gamma : 16,6 %.

Ces proportions sont proches de celles de l'électrophorèse classique et ne nécessitant aucune correction.

4/- La coloration des lipides par le noir Soudan, selon la méthode de SWAHN, avec les modifications de RAYNAUD et PASQUET, est une excellente méthode. Le Rouge Soudan IV avec la modification technique que nous y apportons donne également des colorations très bonnes et durables. Elles montrent deux fractions : lipoprotéines alpha et beta dans les proportions respectives de 30 % et 70 % chez le sujet normal.

5/- La coloration des glucides par le Periodic Acid Schiff, introduite par KOIW et GRONWALL, PASQUET, et à laquelle nous apportons quelques modifications techniques donne 4 fractions bien nettes :

Alpha 1 : 21,2 % - Alpha 2 : 23,3 - Beta; 33,1 - Gamma 17,3 %

6/- Le dosage du cholestérol dans les fractions sériques, selon une technique personnelle, nous a montré

qu'il était localisé pratiquement dans les deux lipoprotéines alpha et beta, avec néanmoins quelques traces en alpha 2

Cholestérol en alpha lipop. : 20,6 - en beta 75,7 -  
en alpha 2 : 1 à 5 %.

## II- LE SÉROGRAMME DANS LES MALADIES DE L'APPAREIL DIGESTIF

1- Dans la cirrhose, nous trouvons dans 30 cas :

- hypoalbuminémie proportionnelle et pondérale et hyperglobulinémie gamma : importantes et constantes ;
- diminution ou disparition des lipoprotéines alpha et diminution parallèle du cholestérol ;
- augmentation des glucoprotéines gamma et diminution des glucoprotéines beta.

Un cas de syndrome de Banti montre un sérogramme semblable.

Deux cas de cirrhose pigmentaire ont des globulines gamma nettement moins élevées.

L'ascite dans la cirrhose a des fractions exactement semblables à celles du sérogramme correspondant, tant en protides qu'en lipoprotéines et glucoprotéines.

2- Dans les ictères -

Une anomalie est constante : la disparition des lipoprotéines alpha.

Notre étude sur l'action des sels biliaires in vitro sur le sérum nous permet de penser que leur

rétenction est, au moins partiellement, responsable de cette anomalie.

En dehors d'elle :

Dans l'ictère par rétenction :

- l'hyperglobulinémie beta est constante.

Il y a en outre : une élévation de alpha 2 modérée mais constante de gamma dans 8 cas sur 11

une hypoalbuminémie très fréquente.

- les lipoprotéines beta sont toujours supérieures, souvent de beaucoup, à celles du témoin.
- Il y a une augmentation globale des glucoprotéines beta, alpha 2 et alpha 1 avec, dans 5 cas sur 8, une élévation de la normale.

Dans l'ictère à virus :

- Hypoalbuminémie et hyperglobulinémie gamma dans 5 cas sur 6 :

Les alpha 2 sont toujours normales,

les beta augmentées dans 2 cas sur 6.

- les lipoprotéines beta sont normales ou à peine élevées par rapport à celles du témoin.
- les glucoprotéines gamma sont à la limite supérieure de la normale. Une onde anormalement élevée en albumine se rencontre dans 3 cas sur 4.

Dans l'ictère hémolytique :

- le protidogramme a une proportion normale des fractions.

Au cours de l'évolution des ictères :

Dans l'ictère par rétention :

- la grosse globuline beta est décapitée dans les jours qui suivent l'opération.
- Les lipoprotéines alpha réapparaissent au fur et à mesure que disparaît l'ictère.

Dans l'ictère à virus :

- L'anomalie protidique persiste longtemps après la guérison clinique. Les lipoprotéines alpha par contre réapparaissent lors de la guérison clinique.

3- Dans le calcul du cholédoque non ictérique -

Le sérogramme est subnormal :

- légère hypoalbuminémie et hyperglobulinémie gamma;
- légère hypolipoprotéinémie alpha.

4- Dans le cancer du foie -

Nous trouvons toujours une grosse fraction en alpha 2, à la fois sur les bandes protidique et glucidique.

5- Dans l'ulcère gastro-duodéal -

Le sérogramme est normal.

6- Chez les gastrectomisés -

En état de carence :

- Hypoalbuminémie nette, hyperglobulinémie gamma relative.
- Lipoprotéine alpha à peine diminuée.
- Glucoprotéines d'une cirrhose.

En dehors de carence clinique :

- Les anomalies sont discrètes, mais certaines dans le même sens



## B I B L I O G R A P H I E

---

- 1--ABERNETHY T.J., AVERY O.T.- Occurence during acute infections of protein not normally present in Blood. Distribution of reactive protein in patients sera and effet of calcium on flocculation reaction with C polysaccharide of pneumococcus.- J? Exp. Med., 1941, 73, 173-182.
- 2- ARMSTRONG S.H. Jr., BUDKA M.J.E. and MORRISON K.C. Preparation and properties of serum and plasma proteins. II- Quantitative interpretation of elettrophoretie Schlierendiagrams of normal human plasma proteins.- J. AM. Chem. Soc. 1947, 69, 416-429.
- 3- BARAC G., BAERTEN A., DEBST M., PIRARD A., UME G. Applications cliniques de la micro-électrophorèse sur papier.- Revue Méd. Liège, 1953, 8, 466-469.
- 4- BENHAMOU E. et PUGLIESE J.- L'électrophorèse dans les maladies du foie et de la rate.- Bull. Acad. Méd., 1950, 134, 772-787.
- 5- BENHAMOU E.- Cours du 11, 13 et 15 Février 1954, à la Chaire de Clinique des maladies infectieuses de Paris.
- 6- BENHAMOU E. et POLONOVSKI J.- Electrophorèse sur papier. Applications cliniques.- Annales de Biologie clinique, 1953, II, 81-98.
- 7- BENNHOLD H.- Über die Vehikelfunktion der Serum Eiweiss-Körper. Bindung des Cholesterins an die Globuline.- Ergeb. inn. Med. und Kinderheilk., 1932, 42, 273.

- 8- BENNHOLD, KYLIN et KUZNYAK - Die Eiweisskörper des Blutplasmas.- Dresde, 1938.
- 9- BIERRY H.- Hydrolyse du plasma sanguin et sucre protidique.- C.R. Soc. Biologie, 1927, 97, 1456-1458.
- 10- BISERTE - Dispositif d'électrophorèse sur papier.- Bioch. et Bioph. Acta 1950, 4, 416-421.
- 11- BLIX G.- Electrophoresis of lipid-free blood serum.- J. Biol. Chem. 1941, 137, 495-501.
- 12- BLIX G., TISELIUS A?, SVENSSON H.- Lipids and polysaccharides in electrophoretically separated blood serum proteins.- J. Biol. Chem. 1941, 137, 485-494.
- 13- BRANTE G.- Paper electrophoresis in the diagnostics of liver and bile duct diseases.- Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1952, 4, 293-312.
- 14- BRISKAS, POLONOVSKI, REBEYROTTE, de WOLF, M. DEBRAY - Etude biochimique et étiopathogénique de la xanthomatose cutanéotendineuse.- Annales de Médecine, 1952, 53, 709-726.
- 15- CAMPBELL - Cité par CREMER et TISELIUS (18)
- 16- CHIRAY M. et DEBRAY Ch.- Technique et valeur des tests actuels de dysfonction hépatique.- Rev. Int. Hepat. 1951, I, N°3, 11-41.
- 17- COHN E.J., LUETSCHER J.A., ONCLEY J.L., ARMSTRONG S.H. et DAVIS B.D.- Preparation and properties of serum and plasma proteins. Size and charge of proteins separating upon equilibration across membranes with ethanol-water mixtures of controlled pH, Ionic Strength and Temperature.- J. Am. Chem. Soc., 1940, 62, 3396-3400.
- 18- CREMER H.D. et TISELIUS A.- Elektrophorese von Eiweiss in Filtier papier.- Bioch. Zeitschrift, 1950, 220, 273-283.

- 19- DEMEULENAERE L. et WIEME R.J.- Tests de labilité plasmatique et électrophorèse du sérum de lapin sous cortisone.- Revue Belge de Path. et Méd. exper., 1952, 22, 201-213.
- 20- DENIS - Cité par KAUTSCH, OSWALD et HOFMANN (51).
- 21- DERRIEN Y.- Thèse de Science, Marseille, 1946.
- 22- DOLE U.P.- Electrophoretic patterns of normal plasma J. Clin. Invest., 1944, 23, 708-713.
- 23- DUBUISSON M.M.- Discussion du rapport de M. Grabar au Congrès de Chimie biol. de Liège, 1946.  
In : GRABAR : Les globulines du sérum sanguin, Paris, 1947.
- 24- DURRUM E.L.- A microelectrophoretic and micro-ionophoretic technic.- J. Am. Chem. Soc., 1950, 72, 2943-2948.
- 25- DURRUM - Continuous electrophoresis and ionophoresis on filter-paper.- J. Am. Chem. Soc., 1951, 73, 4875-4880.
- 26- DURRUM E.L., PAUL M.H., SMITH E.R.M.- Lipid detection in paper electrophoresis.- Science, 1952, 116, 428-430.
- 27- ESSER H., HEINZLER F., KAZMEIER and SCHOLTAN W.- Quantitative Serum-eiweiss fraktionierung mit der Elektrophorese in Filtrierpapier.- Münch. Med. Wochenschrift, 1951, 93, 985-989.
- 28- EVERETT M.R., SHEPPARD F.- Total Sugar of blood and urine. Hydrolysable sugar of blood.- J. Biol. Chem., 1928, 80, 255-268.
- 29- FASOLI A.- Electrophoresis of serum lipoproteins on filter-paper.- Lancet, 1952, 262, 106.
- 30- FEISSLY R.- Recherches sur la prothrombine.- J. Méd. Helv. 1945, 75, 696-699.
- 31- GILBRIN E., LEROUX M. et FRIGOT P.- Prothrombine et foie.- Rev. Intern. Hépat. 1951, I, N°3, p. 43-170.

- 32- GIROUD P., LE GAC P., GANZIN M. et GAILLARD J.A.- Le typhus murin de l'Oubangui. Diagnostic par l'électrophorèse sur papier.- Bull. Soc. Path. Ex., 1952, 45, 306-310.
- 33- GOFMAN J.W., JONES H.B. et coll.- Blood lipids and human atherosclerosis.- Circul. 1950, 2, 161-178.
- 33b-GOFMAN J.W., LINDGREN F., ELLIOTT H.- Ultracentrifugal studies of lipoproteins of human serum.- J. Biol. Chem., 1949, 179, 973-979.
- 34- GRABAR P.- Les globulines du sérum sanguin.-Paris, 1947.
- 35- GRAHAM D.M., LYON T.P., GOFMAN J.W.- Blood lipids and human atherosclerosis. Influence of heparine upon lipoprotein metabolism.- Circulation, 1951, 4, 666-673.
- 36- GRASSMAN W., HANNIG K. und KNEDEL M.- Über ein Verfahren zur elektrophoretischen Bestimmung der Serumproteine auf Filtrier-papier.- Dtsch. Med. Wschr. 1951, 76, 333-336.
- 37- GRASSMAN W., HANNIG K.- Ein quantitatives Verfahren zur Analyse der Serumproteine durch Papier-elektrophorese.- Hoppe Seylers Zschr. Phys. Chem., 1952, 290, 1-27.
- 38- GRASSMAN et HANNIG - Trennung von Stoffgemischen auf Filtrier-papier durch Ablenkung im elektrischen Feld.- Hoppe Seylers Z. physiol. Chem. 1953, 292, 32-50.
- 39- GRAY S.J. et BARRON E.S.G.- The electrophoretic Analysis of serum proteins in disease of the liver.- J. Clin. Invest. 1943, 22, 191-200.
- 40- GREEN A.A., LEWIS L.A.- Ultra centrifugal determination of alpha and beta lipoproteins.- 19th. Meeting of American Chemical Society, Avril 1951.
- 41- GUTLER M.M., GARVA S.M., LERMAN J.- The interrelationships of serum cholesterol, cholesterol esters and Phospholipids in Health and coronary artery disease.- Circulation, 1950, 2, 205-214.

- 42- HARDY W.- Colloidal Solution. The Globulins, Londres, 1905. Cité par TISELIUS (125).
- 43- HARTMANN L. et LOVERDO A.- Electrophorèse des protéides des liquides organiques.- Concours Médiacl, 1952, 74, 2389-2396.
- 44- HEDLUND P.- Appearance of acute phase protein in various disease.- Acta. Med. Scand. 1947, 128, Suppl. 196, 279-301.
- 45- HEWITT L.F.- Polysaccharide content and reducing power of proteins and their digest products. Bioch. J., 1938, 32, 1554-1560.
- 46- HOET - Symposium sur les hémochromatoses.- 1953.
- 47- HOTCHKISS R.D.- A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations.- Arch. Bioch., 1948, 16, 131-141.
- 48- JAYLE M.F., BADIN J.- Constitution chimique et électrophorèse de l'haptoglobine.- C.R. Soc. Biol. 1950, 144, 1475-1478.
- 49- JOURDAIN Anne.- Diagnostic biologique des ictères par des méthodes nouvelles.- Thèse Bordeaux, 1947.
- 50- KAUFMAN H.- Classification des états inflammatoires d'après les données de l'électrophorèse. Relations entre l'équilibre protidique et la leucocytose.- P.M., 1954, 62, 319-320.
- 51- KAUTSCH E., OSWALD A., HOFMANN G.- Die Papierelektrophorese in der Klinik.- Münch. Mediz. Wochenschrift, 1952, 94, 922-927.
- 52- KAY W.W., WHITEHEAD R.- J. Path. Bact., 1954, 34, 449.

- 53- KEKVIC R.A.- Electrophoretic Analysis of normal human serum. Biochem. J. 1939, 33, 1122-1129.
- 54- Von KLOBUSITZKY D. und KONIG P.- Biochemische Studien über die Gifte der Schlangengattung Bothrops.- Arch. für exp. Path. und Pharmac., 1939, 192, 271-275.
- 55- KNEDEL - Über die Klinische Anwendung eines neuen Elektrophorese Verfahren bei Lebererkrankungen.- Mediz. Monatschrift 1951, 10, 707-709.
- 56- KOIW E. and GRONWALL A.- Staining of protein bound carbo-hydrates after electrophoresis of serum on filter paper.- Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1952, 4, 244-246.
- 57- KOIW E., VALLENIUS G., GRONWALL A.- Paperelectrophoresis in clinical chemistry.- Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1952, 4, 47-54.
- 58- KORVER G.- Elektrophorese in Filtrierpapier; ein einfaches Verfahren zur Bestimmung der Serum Eiweißkörper.- Klin. Wschr. 1950, 28, 693-694.
- 59- KUNKEL H.G. et SLATER R.J.- Zone electrophoresis in a Starch supporting Medium.- Proceeding Soc. Exp. Biol. and Med., 1952, 80, 42-44.
- 60- KUNKEL H.G. et SLATER R.J.- Lipoprotein patterns of serum obtained by zone electrophoresis.- J. of Cl. Invest. 1952, 31, 677-684.
- 61- KUNKEL H.G. and TISELIUS A.- Electrophoresis of proteins on filterpaper.- J. Gen. Physiology, 1951, 35, 89-118.

- 62- LEMAIRE A.- Les maladies par auto-agression. Syndrome de Noël Fiessinger.- P.M., 1953, 61, 41-45.
- 63- LILLI R.D., GRECO J.- Malt diastase and ptyalin in place of saliva in identification of glycogene.- Stain Techn., 1947, 22, 67-70.
- 64- LONGSWORTH L.G. et Mac INNES D.A.- An electrophoretic study of nephrotic sera and urine.- J. Exp. Med. 1940, 71, 77-82.
- 65- LONSWORTH L.G., SHEDLOVSKY T., Mac INNES D.A.- Electrophoretic patterns of normal and pathological human blood serum and plasma.- J. of Exp. Med., 1939, 70, 399-413.
- 66- LUTSCHER - Electrophoretic analysis of plasma and urinary proteins.- J. Clin. Invest. 1940, 19, 313-320.
- 67- MAC FARLANE A.S.- Ultra centrifugal protein sedimentation diagramm of normal human cow and horse serum.- Bioch. J., 1935, 29, 660-693.
- 68- MACHEBOEUF M.- Appareil permettant la séparation des fractions protéidiques par électrophorèse.- C.R. Soc. Biol. 1941, 135, 1241-1244.
- 69- MACHEBOEUF M.- Les cénapses lipido-protéidiques.- Exp. Ann. Bioch. Med., 1945, 5, 71-104.
- 70- MACHEBOEUF M., REBEYROTTE P. et Melle BRUNERIE - Applications aux sérums pathologiques, aux urines et aux liquides d'ascite (néphrose lipidique, myélome, cirrhose de Laennec) de la méthode de microélectrophorèse sur papier.- Bull. Soc. Chim. Biol. 1951, 33, 1543-51.

- 71- MACHEBOEUF M., DUBERT J.M., REBEYROTTE P.- Micro-  
électrophorèse sur papier avec évaporation  
continue du solvant (électro-rhéophorèse).-  
Bull. Soc. Ch. Biol., 1953, 35, 334-345.
- 72- MACHEBOEUF M. et REBEYROTTE P.- Quelques avantages  
de la micro-électrophorèse des protéines  
sur papier.- Revue Hémat., 1952, 7, 400-406.
- 73- MAC MLINUS J.E.A.- Histological and histochemical  
uses of periodic Acid.- Stain Technol.,  
1948, 23, 99-108.
- 75- MHAUX J. et KOIW E.- Protéinogramme et lipido-  
gramme sur papier filtre dans le myxoedème.  
Action de la thyroxine.- Annales d'Endo-  
crinologie, 1952, 13, 691-696.
- 76- MALMROS H. et SWAHN B.- Lipoproteins studies.-  
Nord. Med., 1952, 48, 1028-1031.
- 77- MELLANDER O.- Kataphoretische Untersuchungen über  
die Bindungsverhältnisse des Cholesterins  
im Blutserum.- Bioch. Zeitschrift 1935,  
277, 305-317.
- 78- MERKLEN F.P. et MASEIEFF R.- L'adsorption d'albu-  
mine, cause d'erreur dans l'appréciation  
quantitative des protéines sériques dans  
l'électrophorèse sur papier filtre.- C.R.  
Soc. Biol. 1952, 146, 1905-1907.
- 80- MOORE D.H. and LYNN J.- Electrophoretic measurement  
on normal human plasma.- J. Biol. Chem.  
1941, 141, 819-825.
- 81- NIKKILA E.- Distribution des lipides dans les frac-  
tions protéidiques du sérum séparées par  
l'électrophorèse sur papier.- Ann. Med.  
Exp. et Biol. Fenn., 1952, 30, 331-336.

- 82- NILSON - Über den Glucosamin gehalt des Blutserum bei Gesunden und PneumonieKranken.- Bioch. Zeitschrift 1937, 291, 254-258.
- 83- ONCLEY J.L., GURD F.R.N. and MELIN M.- Preparation and properties of serum and plasma proteins. Composition and properties of human serum beta lipoprotein.- J. Am. Ch. Soc., 1950, 72, 458-474.
- 84- ONCLEY J.L., GURD F.R.N. and MELIN M.- Preparation and properties of serum and plasma proteins. Composition and properties of human serum beta lipoprotein;- J.Am.Chem. Soc. 1950, 72, 458.
- 85- OTT H., HUBER H. und KORVER G.- Ein Vergleich der Elektrophoresemethoden nach Tiselius, Antweiler und Turba.- Kl. Wschft, 1952, 30, 34-37.
- 86- PASQUET - Contribution à l'étude du fractionnement électrophorétique des lipoprotéines et des glucoprotéines du sérum sanguin. - Thèse, Alger 1954.
- 87- PEDERSEN - Ultracentrifugal studies on serum and serum fractions.- Uppsala, 1945.
- 88- PERLMAN G.E., GLENN W.W.L., KAUFMAN D.- Changes in electrophoretic patterns in lymph and serum in experimental burns.- J. Clin. Invest. 1943, 22, 627-633.
- 89- PHILPOT J.St. L.- Direct Photography of ultracentrifugal sedimentation curves - Nature, 1938, 141, 283-284.
- 90- PLUCLTHUN H. und GOTTING H.- Beitrag zur method der elektrophoretischen Untersuchung der Serum-eiweissKörper auf Filtrierpapier.- Kl.Wschr. 1951, 29, 415-418.

- 92- POLONOVSKI - Pathologie chimique - Paris 1952.
- 93- POLSON A.- Electrophoresis of Animal Virus and their neutralizing antibodies in lower concentrations.- Nature, 1940, 145, 27.
- 94- RAYNAUD M., ROBERT d'ESHOUGUES, PASQUET P. et di GIOVANNI S.- Etude des lipoprotéines dans l'athérosclérose.- B.S.M. Hop. Paris, 1953, 69, 394-402.
- 95- RAYNAUD M., ROBERT d'ESHOUGUES, PASQUET P. et di GIOVANNI S.- Technique d'étude des lipoprotéines sériques au moyen de l'électrophorèse sur papier.- Ann. Biol. Ch. 1953, II, 373-383.
- 96- RECANT L., CHARGAFF, HANGER - Comparison of the cephalin-flocculation with the thymol turbidity test.- Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1945, 60, 245-247.
- 97- REINER - Zur Kenntnis des Serumglobulins.- Bioch. Zeitschrift 1927, 191, 158-174.
- 98- RICKETTS W.E. and STERLING K.- Electrophoretic studies of the serum proteins in virus hepatitis.- J. Clin. Invest. 1949, 28, 1477-1486.
- 99- RICKETTS W.E., STERLING K., KIRSNER J.B. and PALMER W.L.- Electrophoretic studies of the serum proteins in portal cirrhosis.- Gastroenterology, 1949, 13, 205-211.
- 100- RIMINGTON C.- Isolation of carbohydrate derivative from serum proteins.- Bioch. J. 1929, 23, 430-443.
- 101- ROCH A., Mme, et MARQUET F.- Recherches sur le vieillissement du sérum.- C.R.Soc. Biol., 1935, 119, 1147-1149.

- I02- ROSENBERG I.N.- Behavior of Lipids during electrophoresis of serum on paper.- J. Clin. Invest. 1952, 31, 657-658.
- I03- ROSENBERG I.N.- Serum lipids studied by electrophoresis on paper. Proc. of Soc. for Exp. Biol. and Med., 1952, 80, 751-756.
- I04- ROSSMAN I.- Cyclic changes in endometrial lipids of the monkey.- Am. J. Anat. 1941, 69, 187-227.
- I05- RUSS E.M., EDER H.A., BARR D.P.- Proteinlipid relationships in Human plasma.- Am. J. Med. 1951, 11, 468-493.
- I06- SCHNEIDER G.- Brauchbarkeit und Anwendungsbereich der Papierelektrophorese für Serumprotein.- Act. Scand. Chem. 1951, 5, 1020-1030.
- I07- SEIBERT F.B. and ATNO J.- Variation in protein and polysaccharide content of sera in chronic diseases.- J. Biol. Chem. 1946, 163, 511-522.
- I08- SEIBERT F.B., PEDERSEN F.O. and TISELIUS A.- Molecular weight, electrochemical and biological properties .. of polysaccharide molecules.- J. Exp. Med. 1938, 68, 413-438.
- I09- SEIBERT F.B., PEDERSEN F.O. and TISELIUS A.- Molecular weight, electrochemical and biological properties of tuberculin protein and polysaccharide molecules.- J. Exp. Med., 1938, 68, 413-438.
- I10- SIBILLE A. et SONNET J.- Les variations des globulines alpha 2 dans l'infarctus du myocarde.- Brux. Med., 1954, 34, 505-509.

- III- SONNET J. et RODHAIN J.- Etude des protéines sériques par électrophorèse sur papier.- Rev. Belg. Path. Med. Exp., 1952, 22, 226-240.
- II2- SONNET J. et RODHAIN J.- Etude des protéines sériques par électrophorèse sur papier. Reproductibilité des résultats.- Rev. Belg. Path. Med. Exp. 1953, 23, 5-13.
- II3- SOULIER J.P. et ALAGILLE D.- Etude des lipoprotéines dans l'athérosclérose humaine et expérimentale par l'électrophorèse; effet de l'héparine.- Sem. Hop. Paris, 1953, 29, 3171-3181.
- II4- STENHAGEN E.- Electrophoresis of human blood plasma. Electrophoretic properties of fibrinogen.- Bioch. J., 1938, 32, 714-718.
- II5- STERLING K., RICKETTS W.E., KIRSNER J.B. and PALMER W.L.- The serum proteins in portal cirrhosis electrophoretic studies. Effect of therapy. Proceeding of the 41 animal meet. of the Am. Soc. for Cl. Invest., May 1949.- In : J. Cl. Invest., 1949, 28, 813.
- II5b- STERLING K. and RICKETTS W.E.- Electrophoretic studies of the serum proteins in biliary cirrhosis.- J. Clin. Invest. 1949, 28, 1469-1476
- II6- STERLING K., RICKETTS W.E., KIRSNER J.B., PALMER W.L. The serum proteins in portal cirrhosis under medical management. Electrophoretic studies.- J. of Clin. Invest. 1949, 28, 1236-1245.
- II7- SVEDBERG T.- Über die Bestimmung von Molekulargewichten durch Zentrifugierung.- Zeitsch. für phys. Chm., 1926, 121, 65-77.
- II8- SVENSSON A.- Direkte photographische Aufnahme von Elektrophorese diagrammen.- Koll. Zschr. 1939, 87, 181-186.

- II9- SWAHN B.- Micromethod for the determination of total lipids in serum.- Chemical Abstracts 1952, 47, n°4, p.1766.
- I20- SWYNGEDAUF J. et MASSE L.- Procédé automatique nouveau d'enregistrement de l'électrophorèse des protéines.- C.R. Acad. Sciences; 1945, 221, 517-518.
- I21- TAYEAU - Destruction des cénapses cholestéroloprotéidiques du sérum sanguin par les sels biliaires.- C.R. Soc. Biol. 1943, 137, 239.
- I22- TAYEAU - Le système lipido-protéidique du sérum sanguin chez les malades atteints d'ictère par rétention.- C.R. Soc. Biol. 1943, 137, 240-241.
- I23- THEORELL H.- Studien über die Plasmalipoide des Blutes.- Biochem.Ztsch. 1930, 223, 1-99.
- I24- TISELIUS A.- A new Apparatus for Electrophoretic analyses of colloidal mixture.- Tr. Faraday Soc., 1937, 33, 524.
- I25- TISELIUS A.- Electrophoresis of serum globulin : electrophoretic analysis of normal and immune sera.- Bioch. J. 1937, 31, 1464-1477.
- I26- TISELIUS A.- Electrophoresis of serum globulin.- Bioch. J. 1937, 31, 313-317.
- I27- TISELIUS A., PEDERSEN O.K.- Observation of ultracentrifugal sedimentation by the Toepler Schlieren method.- Nature, 1937, 139, 546.
- I28- TURBA F. und ENENKEL A.J.- Elektrophorese von Proteinen in Filtrierpapier.- Naturwissensch., 1950, 37, 93.

- I29- VARGUES R., PASQUET P., CRUCK S., VERAINE A.- Apport nouveau dans l'étude de l'athérosclérose expérimentale du lapin : intérêt de la fiche réticulo-endothéliale de Sander.- C.R. Soc. Biol. 1953, 147, 112-114.
- I30- VIOLLIER G.- Electrophoresis in hepatitis, liver atrophy and cirrhosis, liver disease a Ciba Foundation symp. London, 1951, cité par POLONOVSKI (92).
- I31- WIEDEMANN E.- Elektrophorese-Versuche an Serum und Plasma.- Schw. Med. Wsch. 1945, 75, 229-234.
- I32- WIEDEMANN E.- Elektrophorese Versuche an Serum und Plasma.- Schw. Med. Wochn. 1946, 76, 241-250.
- I33- WIELAND Th. und FISCHER E.- Über Elektrophorese auf Filtrierpapier.- Trennung von Aminosäuren und ihren Kupferkomplexen.- Naturwiss. 1948, 35, 29-30.
- I34- WIELAND Th. und WIRTH L.- Retentionalyse von Papier-elektrophoregrammen natürlicher Proteingemische.- Angew. Chem. 1950, 62, 473.
- I35- WUHRMANN F.- Einige aktuelle klinische Probleme über die Serumglobuline.- Schw. Med. Wochenschrift 1952, 82, 937-940.
- I36- WUHRMANN et WUNDERLY- Elektrophorese untersuchungen beim nephrotischen Syndrom und bei der Leberzirrhose und ihre klinische bedeutung.- Schweiz Med. Wochnschr., 1946, 76, 251-256.
- I37- ZOLLNER- Elektrophorese Bild von Lebererkrankungen.- Klin. Wschr., 1950, 28, 62-66.
-

VU & PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

Jean SARRAILH.

VU :

Le Doyen de la Faculté de  
Médecine de Paris,

Léon BINET.

VU :

Le Président de Thèse,

Mr. LEMAIRE.





